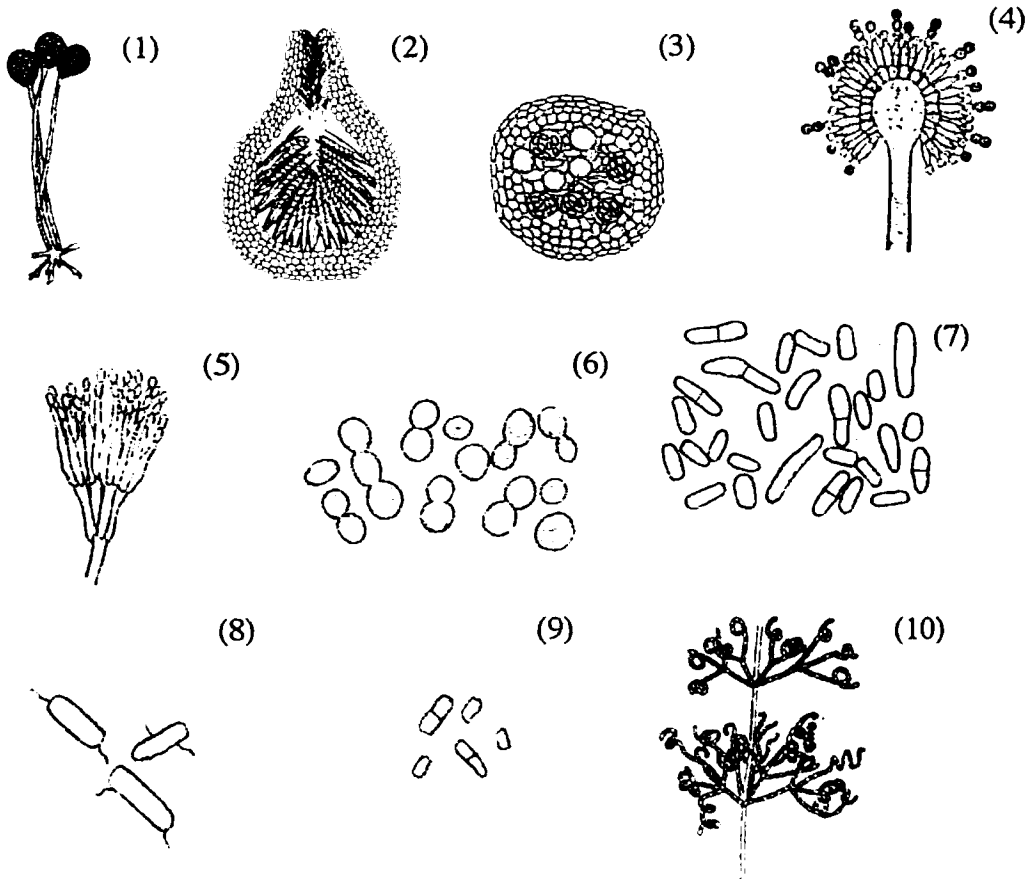


平成17年入学 博士前期課程入学試験問題 (微生物学)

問題1. 顕微鏡下で次のような形態を観察した。この形態を示すような微生物の属名を学名(ラテン語標記)で1つ答えなさい。(配分20%)

- (1) 糸状のカビで、菌糸には隔壁がほとんどなく、下図のような形態を示した。
- (2) 子のう殻が下図のような形態を示した。
- (3) 子のう殻が下図のような形態を示した。
- (4) カビで下図のような形態を示した。
- (5) カビで下図のような形態を示した。
- (6) 大きさは通常細菌より大きく、細胞の分裂が下図のような形態を示した。
- (7) 大きさは通常細菌より大きく、細胞の分裂が下図のような形態を示した。
- (8) グラム陽性菌で納豆における主要微生物であり、鞭毛染色の結果、下図のような形態を示した。
- (9) グラム陰性菌で下図のような形態を示した。
- (10) 細菌で下図のような形態を示した。



問題2. 大腸菌とファージの遺伝現象について以下の問いに答えなさい。

(配分20%)

- (1) 大腸菌には性があることが知られている。大腸菌の雄、雌のことをそれぞれなんと言うか答えなさい。
- (2) 大腸菌の雄と雌の細胞を混在させると遺伝物質が一方から他方に移る。それはどのような実験によって明らかにされたか説明しなさい。
- (3) Hfr 株とはどのような株か答えなさい。
- (4) 雄と雌の細胞を混合して培養すると培養液に含まれる細胞の性はどのようなようになるか答えなさい。
- (5) Hfr 株と雌の細胞を混合して培養すると培養液に含まれる細胞の性はどのようなようになるか答えなさい。
- (6) 大腸菌の染色体は環状であることが知られている。それは、どのようにして明らかにされたか説明しなさい。
- (7) 大腸菌の性を決めている物質的な実体はどのようなものか答えなさい。
- (8) それはどのような実験によって明らかにされたか説明しなさい。
- (9) バクテリオファージとは何か答えなさい。
- (10) バクテリオファージが一方の細菌から他方の細菌に遺伝物質を移す様式には2種類ある。2種類の様式はどのようなものか答えなさい。

問題3. 次のDNA修復と突然変異に関する設問に答えなさい。(配分20%)

(1) ピリミジン二量体などのDNA損傷は突然変異を引き起こす。細胞はこのDNA損傷を修復する機構を持っている。修復機構に関する次の文に間違いがあれば指摘して訂正しなさい。

(ア) ピリミジン二量体を認識して赤外線によって活性化される酵素があり、この酵素による修復機構を光回復と呼んでいる。

(イ) ピリミジン二量体によるDNA上の構造のゆがみをUvrAB酵素が認識し、UvrC酵素の作用でニックが入る。ニック部位を含む12~13塩基の領域がUvrD酵素により切り出される。その後、正常なDNA鎖の配列を鋳型にして修復されて元に戻る。これを塩基除去修復と呼んでいる。

(ウ) ピリミジン二量体とリボースとの結合部位を切り離すDNA glycosylase活性とDNA鎖中のピリミジン塩基の脱落した部分を切断するAP endonuclease活性をもつ酵素により修復されるミスマッチ修復がある。

(エ) DNA複製時に相補的でないヌクレオチドが一定の確率で取り込まれることがあり、突然変異の原因となる。この不正塩基対をDNAポリメラーゼ自身が5'から3'へのexonuclease活性を働かせて修復している。これを校正修復と呼んでいる。

(2) ナンセンス変異とフレームシフト変異はどのような変異であるかが分かるように説明しなさい。

(3) ある遺伝子の突然変異形質が別の遺伝子に起こった第2の突然変異によって元の野生型形質に戻る現象がある。この第2の突然変異を何と呼んでいるか答えなさい。また、野生型形質に戻る機構について、例を1つあげて説明しなさい。

問題4. 大腸菌のトリプトファン生合成遺伝子に関して以下の設問に答えなさい。(配分20%)

- (1) トリプトファン生合成遺伝子群はオペロンを形成している。オペロンとは何かを説明しなさい。
- (2) トリプトファンオペロンのオペレーター領域に変異によってリプレッサー結合が出来なくなった場合とラクトースオペロンのオペレーター領域で同様のことが生じた場合を比較し、それらの相違点を説明しなさい。
- (3) 他のアミノ酸生合成調節機構でも見られるように、最終生産物の濃度が高いとき、生合成遺伝子が発現されない現象を何とよいか答えなさい。
- (4) トリプトファン生合成遺伝子は、オペロンを形成している以外にも別の特徴的な発現調節機構が存在している。この調節機構を説明しなさい。
- (5) 染色体上のトリプトファン生合成遺伝子の連鎖地図を求めるために P1 ファージを用いて遺伝解析を行い、表のような結果が得られた。*trpA* 遺伝子の順番が決定出来るかどうかをふまえてこの結果を考察しなさい。

供与菌株 (遺伝子型)	受容菌株 (遺伝子型)	選択した表現型 (解析したコロニー数)	選択した表現型以外の表現型	左記表現型を示した コロニー数
AB12	AB211	Moa ⁺	Trp ⁺ Pyr ⁺	10
(<i>pyrF</i>)	(<i>trpA, maoA</i>)	(200)	Trp ⁺ Pyr ⁻	2
			Trp ⁻ Pyr ⁺	188
			Trp ⁻ Pyr ⁻	0

pyrF; orotidine-5'-phosphate decarboxylase, *trpA*; tryptophan synthase, *maoA*; monamine oxidase

問題 5. 下記の微生物を利用または微生物が関与する醗酵産物を答えなさい。

(配分 10%)

- (1) *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus sakei*
- (2) *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Mucor miehei*, *Serratia marcescens*
- (3) *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium glycinophilum*, *Brevibacterium flavum*, *Brevibacterium lactofermentum*
- (4) *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium saccharoacetobutylicum*, *Clostridium butyricum*
- (5) *Propionibacterium shermanii*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Penicillium roquefortii*, *Penicillium camembertii*, *Mucor pusillus*, *Mucor miehei*
- (6) *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Candida* sp., *Mucor* sp., *Pseudomonas* sp.
- (7) *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Pediococcus halophilus*, *Streptococcus faecalis*, *Candida versatilis*, *Zygosaccharomyces rouxii*
- (8) *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium ammoniagenes* (*Brevibacterium ammoniagenes*), *Brevibacterium liquefaciens*
- (9) *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces carlsbergensis*
- (10) *Acremonium cellulolyticus*, *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Neurospora* sp., *Trichoderma reesei*, *Trichoderma koningii*
- (11) *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Gluconobacter oxydans*
- (12) *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus usamii*, *Candida lipolytica*
- (13) *Escherichia coli* RY13, *Serratia marcescens* Sb, *Haemophilus influenzae* Rd, *Bacillus amyloliquefaciens* H
- (14) *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces kanamyceticus*, *Cephalosporium acremonium*
- (15) *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*

問題6. 近年、季節外れの多くの食品を簡単に手に入れることが出来るようになった。これは、食品保存法や流通システムの進歩によるところが大きい。そこで、食品を微生物汚染から長期間防ぐための原理の異なる方法を3種類示し、それぞれの方法原理、対象となる食品、流通や販売方法を含めた保存の仕方などを述べなさい。(配分10%)

生物化学 I -1 (配点率 33.3%)

I. 純水を入れた透析膜の袋を 5 M の食塩水を入れた容器に入れるとどうなるか述べよ。また、その理由を溶液の浸透圧と拡散に基づいて説明せよ。

II. ここに、5つのアミノ酸から成る5種類のペプチド、Asp-Ala-Glu-Cys-Glu、Asn-Thr-Gln-Gly-Gln、Ile-Lys-His-Arg-Arg、Ser-Ser-Trp-Ser-Pro、Phe-Val-Met-Leu-Tyrがある。以下の問いに答えよ。

- 1) この中で最も疎水性の高いペプチドはどれか？
- 2) この中で最も酸性であるペプチドはどれか？
- 3) この中で最も塩基性であるペプチドはどれか？
- 4) この中で分子間ジスルフィド結合を形成しうるペプチドはどれか？
- 5) この中でトリプシンにより分解されるペプチドはどれか？
- 6) この中でプロモシアン (BrCN) により分解されるペプチドはどれか？

III. 酵素は高い特異性と触媒活性をもつが、比較的限られた pH 範囲や温度範囲でしか最適な活性を示さない。ではどうして限られた pH や温度でしか最適な活性を示さないのか、考えられる理由を述べよ。

I. 以下の化合物の構造を示せ。

- a) β -D-galactosyl-(1 \rightarrow 3)- α -N-acetyl-D-galactosamine
- b) *sn*-1-acyl-2-arachidonyl-3-phosphatidylinositol-4',5'-bisphosphate
- c) L-fructose を NaBH₄ 処理した化合物
- d) cholesterol

II. 以下の文章中、(A)～(J)について最も適当な語句を記せ。

同一の分子式を持つが、原子の配列順序や空間配置が異なる分子を異性体と呼ぶ。異性体はふたつのグループ、すなわち同一の分子式を持つが原子の配列順序が異なる (A) 異性体と、同一の分子式、同一の構造式を持つが原子の空間配置が異なる (B) 異性体とに分けられる。

(B) 異性体のうち、フマル酸とマレイン酸のように *cis-trans* の関係にある場合を (C) 異性体と呼ぶ。(C) 異性体以外の (B) 異性体は、(D) 異性体と呼ばれ、通常その分子内に、共有結合する置換基が4つとも全て異なる炭素原子、すなわち (E) を持つ。

D-アラニンとL-アラニンの場合のように、ふたつの (D) 異性体同士が、互いに実像と鏡像の関係にあるとき、これを (F) と呼ぶ。又、D-ガラクトースとD-マンノースの場合のように、互いに (F) の関係にないとき、(G) と呼ぶ。

複数の (E) を持つ (G) に関して、一個の (E) についてのみ、その立体配置が異なる化合物同士を (H) の関係にあると呼び、D-グルコースの5位の (H) は (I) になる。アルドースが、鎖状構造から環状構造に変化する際、1位に新たに (E) が生じ、その結果生成する (H) を特に (J) と呼ぶ。

生物化学 I-3 (配点率 33.3%)

ある酵素の触媒活性に対する pH の影響を調べたところ、pH6 付近で最も高い活性を示した。次に、この酵素の安定性に対する pH の影響を調べたところ、pH6 から 9 までの範囲では安定であり、その領域から離れるにつれ安定性は低下した。以下の問に答えよ。

- 1) 安定性を評価するのにどのような測定値を用いるのがよいか。
- 2) 上記 2 種類の実験において、それぞれの実験操作の内容が大きく異なっている点がいくつかある。重要と思われる相違点を 2 つ挙げ、その違いの意味を説明せよ。
- 3) それぞれの実験結果を図示せよ。

生物化学Ⅱ－1 (配点率 40%)

次の文章を読み以下の設問に答えよ。

ア) 細胞が分裂して次に分裂するまでの間に通り過ぎる各段階が (①) を構成する。(①) は (②) つの主要な時期に分けられる。(③) 期は 有糸分裂過程 を含み、倍加した (④) がここで二つの核に分けられる。また、(③) 期には (⑤) も含まれ、そこでは 細胞全体が2つの娘細胞に物理的に分割される。一方、(⑥) 期は、(③) 期より通常ずっと長く、(①) の中で限定された期間である (⑦) の時期を基準に、(⑧) つのはっきりと区別される時期に分かれる。(⑨) 期は、有糸分裂に続き、(⑦) に先立つ期間である。(⑩) 期は (⑪) 合成および (⑫) 合成の行われる期間である。(⑬) 期は (⑦) に続き、有糸分裂の開始に先立つ期間である。(①) 全体と、各期の長さは、細胞の種類ごとに実に多様である。(①) は、急速に分裂している胚に見られる30分くらいの短さから、ゆっくりと増殖している組織に見られる数ヶ月という長さまでである。最終的な分化を行ったある種の細胞、たとえば脊椎動物の (⑭) 細胞や (⑮) 細胞は、分裂する能力を失っている。(⑪) と (⑫) 以外のほとんどの合成活性は、(⑥) 期にはずっと続いているが、(③) 期には顕著に減少するか完全に停止してしまう。

問1 括弧の中に最も適当な用語あるいは数字を入れて文章を完成させよ。解答用紙に①から⑮までの番号を振り、それに対して解答を記入せよ。

問2 下線部ア) ではその中の重要な段階が正しく完了されていない場合などにその過程の進行を停止させる仕組みが細胞には備わっている。この仕組みの名称とそれが行うと考えられる3つの働きについて100字程度で述べよ。

問3 下線部イ) に相当する英語を記せ。

問4 下線部ウ) の過程を動物細胞と植物細胞に分け、違いを明示した図を用いて200字以内で説明せよ。

生物化学Ⅱ-2 (配点率 30%)

植物の光呼吸に関連する下記の設問に数行程度で簡潔に答えよ。

- 問1 光呼吸において、酸素分子は、リブローズ 1,5-ビスリン酸 (RuBP) と反応し、2-ホスホグリコール酸と 3-ホスホグリセリン酸を生じる。その推定反応機構を記せ。
- 問2 C3 植物では、一般に強光乾燥時に光酸素障害 (光酸化障害) が生じる。その機構を説明せよ。
- 問3 光呼吸は、一見するとエネルギー浪費経路だが、強光乾燥時に起こる光酸素障害の回避機構としても重要だと考えることができる。その理由を説明せよ。
- 問4 C4 植物は、ほとんど光呼吸を行わない。その理由を説明せよ。

生物化学Ⅱ-3 (配点率 30%)

以下の設問に答えよ。

ただし、解答欄は、各問 (問1, 問2) に対し、それぞれ半ページ以内とせよ。内容に、化学構造式・化合物の名称・物理数量などを盛り込むこと。

- 問1 薬剤 (化学物質) による動物培養細胞の増殖を効果的に抑制する方法
- 問2 テルペン系化合物である植物ホルモンの生合成と生理活性

(注意: 生物化学Ⅱ-1 生物化学Ⅱ-2 生物化学Ⅱ-3 は、それぞれ別々の解答用紙に解答すること。)

生物プロセス工学 その1-A (20%)

図1は、気相と液相の境界面（気液界面と呼ぶ）における酸素分子の移動について考えるための二重境膜説と呼ばれるモデルを示している。二重境膜説では、気液界面をはさんでガス側境膜と液側境膜と呼ばれる2つの薄い層があり、気相と液相間での物質の移動を妨げる抵抗はこの層内にのみ存在すると仮定する。以下の問いに答えなさい。

問1. 単位時間、単位面積当たりの物質移動速度($\text{kg}/\text{m}^2 \text{ h}$)を流束と呼ぶ。定常状態においては、流束はガス分圧や濃度差に比例するとしてモデル化することができる。定常状態における酸素分子のガス側境膜における流束 N_g および液側境膜における流束 N_L を、図1を参考にし下記の記号を適当に用いて表しなさい。(5%)

問2. 気相と液相間の酸素分子の移動が定常状態にある時、 N_g と N_L の間にはどのような関係が成り立つと考えられるか。 N_g と N_L の間の関係を式で表しなさい。また、酸素分圧が P_g (atm) である気相と平衡な液相の溶存酸素濃度(飽和溶存酸素濃度と呼ぶ)を C^* (kg/m^3) とする時、 P_g と C^* の間にヘンリー則が成り立つとすれば、 P_g と C^* の間にどのような関係式が成り立つか。下記の記号を適当に用いて関係式を表しなさい。(5%)

問3. 気液界面における酸素分圧 P_i と溶存酸素濃度 C_i もまた平衡状態にあり、両者の間にヘンリー則が成り立つと仮定した時、問2. の N_g と N_L の間の関係式を変形して、 N_L を実測可能な飽和溶存酸素濃度 C^* と液相の酸素濃度 C_L により表しなさい。(10%)

- A 気液界面の面積 (m^2)
- C 溶存酸素濃度 (kg/m^3)
- C^* 飽和溶存酸素濃度 (kg/m^3)
- H ヘンリー定数 ($\text{kg}/\text{m}^3 \text{ atm}$)
- k_g ガス側酸素移動速度係数 ($\text{kg}/\text{m}^2 \text{ h atm}$)
- k_L 液側酸素移動速度係数 (m/h)
- P 酸素分圧 (atm)

添え字

- i 気液界面
- g 気相
- L 液相

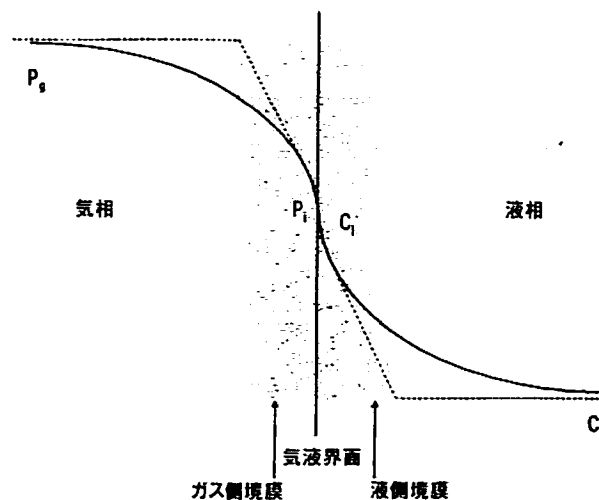


図1 酸素分子の移動に関する二重境膜モデル
実曲線が酸素分子の分圧および濃度の分布、この濃度分布を破線の線に近似する。

生物プロセス工学 その1-B (20%)

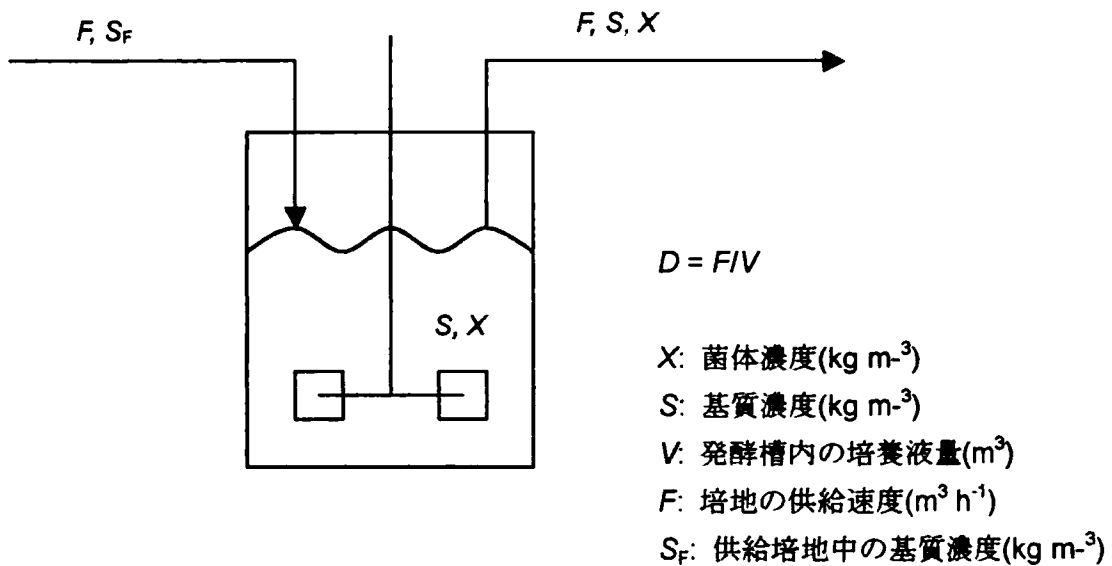
問1. 下図に示す連続培養システムにおいて、定常状態を達成するためには dilution rate, $D(\text{h}^{-1})$ やその他の条件をどのように設定すればよいか。またその際、比増殖速度 $\mu(\text{h}^{-1})$ は D と等しくなることを物質収支に基づいてわかりやすく説明せよ。(20/3%)

問2. 菌体増殖収率 $Y(\text{kg-cell kg-substrate}^{-1})$ が一定で、比増殖速度と基質濃度 $S(\text{kg m}^{-3})$ との関係に下記の(1)式が成立すると仮定して、菌体生産速度を最大にする dilution rate を求めよ。(20/3%)

$$\mu = aS + b \dots \dots \dots (1)$$

a, b: 定数

問3. 菌体内にのみ存在する代謝産物について考える。その代謝産物の単位菌体重量あたりの含有量を $P(\text{kg-product kg-cell}^{-1})$ とすると、連続培養における定常状態の P の値は μ と比生産速度 $\rho(\text{kg-product kg-cell}^{-1} \text{h}^{-1})$ の比で与えられることを示せ。(20/3%)



生物プロセス工学 その2 問題 A

①～⑬ に入る適当な数式、文字、数値を書きなさい。なお、⑦、⑩、⑪、⑬は計算過程もわかるように記入しなさい。(配点率20%)

完全混合培養槽において、流加培養(基質の流入のみがあり、流出はない)を考える。このとき、菌体濃度 X 、制限基質濃度 S の満たすべき物質収支式(微分方程式)は

$$dVX/dt = \{ \text{①} \} \quad (1)$$

$$dVS/dt = FS_f - \{ \text{②} \} \quad (2)$$

$$dV/dt = \{ \text{③} \} \quad (3)$$

ただし、菌体の流入はないものとし、菌体比増殖速度、制限基質比消費速度をそれぞれ、 μ, v とする。また、流入制限基質濃度を S_f 、流入液量を F 、反応槽液容積を V とする。

(1) 式を(3) 式を使って変形すると、

$$dX/dt = \{ \text{④} \} \quad (4)$$

流加培養中の菌体濃度が一定であるためには、この式より④=0 でなければならない。この関係を(3) 式に代入し、 μ が一定として積分すると(初期値 V_0)

$$V = \{ \text{⑤} \} \quad (5)$$

となる。

また、もう一度(3) 式を使うと

$$F = \{ \text{⑥} \} \quad (6)$$

が導ける。

次に設定した μ が守られているか菌体濃度のデータを基に計算してみよう。(1) 式で μ が一定として積分し、変形すると

$$\ln \{(VX) / (V_0X_0)\} = \{ \text{⑦} \} \quad (7)$$

この関係を使って、以下のデータから最小自乗法によって μ の推定値を求めたい。そのため、 $Y = aX$ なる原点を通る直線の当てはめを考える。データ点 $\{X_1, X_2, \dots, X_N\}$ 、

$\{Y_1, Y_2, \dots, Y_N\}$ に対して、誤差面積 $J = \sum (Y_i - a X_i)^2$ を最小にするパラメータが満たす{⑧}条件は J を a で{⑨}してゼロとおくことである。この関係より、 $a = \{ \text{⑩} \}$ と求まる。

この結果を使って μ の推定値を求めると、{ ⑪ }と求まる。また、菌体収率 $Y_{X/S}$ は

$$\{ \text{⑫} \} = Y_{X/S} (S_f - S)$$

を満たすから、同様の最小自乗推定により { ⑬ } と求まる。

データ	$S_f = 20.0 \text{ (Kg/m}^3\text{)}$					
時間 t (h)	$X \text{ (Kg/m}^3\text{)}$	$\ln X$	$V \text{ (m}^3\text{)}$	$\ln V$	$S \text{ (Kg/m}^3\text{)}$	
0	10.0	2.3	5.0	1.6	0.8	
1	10.6	2.4	5.5	1.7	0.9	
2	9.6	2.3	6.1	1.8	0.5	
3	10.7	2.4	6.7	1.9	0.5	
5	9.6	2.3	8.2	2.1	0.4	

生物プロセス工学 その2 問題B

B-1. 密度 ρ_0 ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)、粘度 η ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)の溶液中に沈降係数 S (s) の粒子がある。

(配点率 6.6%)

- (1) 粒子が直径 D_p (m)、密度 ρ ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)の剛体球である時、 S と ρ_0 、 η 、 D_p 、および ρ の関係式を書け。ただし、レイノルズ数は十分に小さいとする。
- (2) 角速度 ω (s^{-1})でこの粒子を遠心分離している。回転軸から r_0 (m)から r_1 (m)まで沈降させるのに要する時間 (s)を求めよ。(ヒント: 回転軸から r (m)における粒子の沈降速度を v ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)とすれば $v=dr/dt=Sr\omega^2$ である。)

B-2. 次の術語のうち2つを選んで簡潔に説明せよ。(配点率 6.7%)

- (1) 逆相クロマトグラフィー
- (2) 透過気化法
- (3) DEAE
- (4) 両性担体

B-3. $\text{pK}_a=4$ のカルボキシル基を2つ、 $\text{pK}_a=11$ のアミノ基を4つ持つペプチドがある。

(配点率 6.7%)

- (1) このペプチドの荷電と pH の関係を図示せよ。
- (2) このペプチドを pH 7 で電気泳動すると、陰極、陽極どちらの側に泳動するか。
- (3) このペプチドを pH 7 で陽イオン交換カラムにかけた。ペプチドはカラムに吸着するか否か。

生物プロセス工学 その3 : (配点率 20%)

問題: 環境中の水質評価における化学的酸素要求量測定の意義を環境微生物の水質浄化に果たす役割という観点から説明しなさい。(5行程度、字数は問わない)