

平成 24 年度 大学院博士前期課程入学試験問題

生物工学 I

生物化学工学，基礎生物化学から 1 科目選択

但し，内部受験生は生物化学工学を必ず選択すること

解答には、問題ごとに 1 枚の解答用紙を使用すること

受験番号	
------	--

生物化学工学

問題 1. (配点率 33/100)

酵素反応の速度には、Michaelis–Menten の式が広く使われている。この式では、基質 S が酵素 E と結合し、不安定な酵素・基質複合体 ES を生成し、この複合体が不可逆的に分解し、生成物 P ができる、という機構が提案されている。以下の問いに答えよ。

- (1) Michaelis–Menten の式を反応速度 v ($\text{mol m}^{-3} \text{min}^{-1}$)、最大反応速度 v_{\max} ($\text{mol m}^{-3} \text{min}^{-1}$)、Michaelis 定数 K_m (mol m^{-3})、基質濃度 $[S]$ (mol m^{-3})として示せ。
- (2) Michaelis–Menten の式の導出には、いくつかの近似法が知られている。いずれかの方法にて、Michaelis–Menten の式を導出せよ。その際、近似がどのようになされたか、また、使用記号の定義を明記せよ。
- (3) 酵素反応実験では、初期酵素反応速度 v_i ($\text{mol m}^{-3} \text{min}^{-1}$)と初期基質濃度 $[S]_i$ (mol m^{-3})の関係を求め、Lineweaver-Burk プロットにより、最大反応速度 v_{\max} ($\text{mol m}^{-3} \text{min}^{-1}$)、Michaelis 定数 K_m (mol m^{-3})を、図解法により求めることが多い。これらのパラメータ値を算出する方法について示せ。

問題2. (配点率 33/100)

化学反応の速度定数 k は、(A) の関係式

$$k = k_0 \exp(-E/RT) \quad \dots\dots \text{式(1)}$$

で表わされる。ここで、 k_0 は定数、 E は活性化エネルギー、 R は気体定数、 T は反応温度である。

多くの微生物において、それらの熱死滅速度定数 k_d の熱依存性も式(1)で整理することができる。このことは、様々な滅菌温度 T における k_d を実測し、 k_d の常用対数を T の逆数に対してプロットすると 図 2.1 に示すような直線関係が得られる

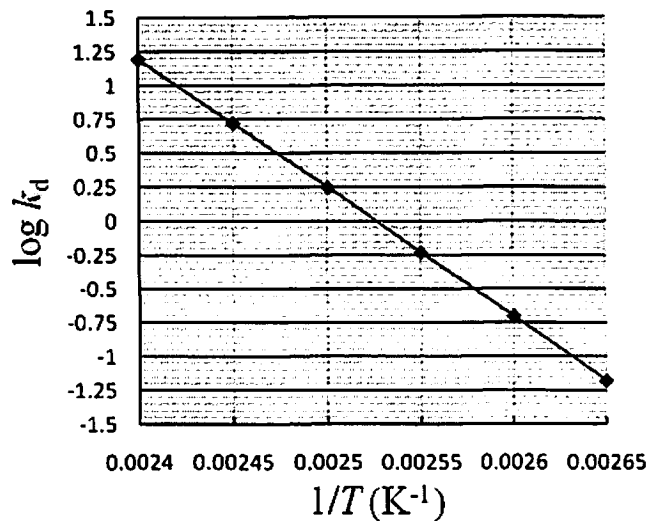


図 2.1 微生物の熱死滅定数と温度の関係

ことから理解できる。また、微生物の生存に必須な生体分子の熱による変性や分解が、一般的な化学反応と同様に式(1)の関係に従って進行するという説明も可能であろう。

R (気体定数) = $8.31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ 、 $\ln 10 = 2.30$ として以下の問いに答えよ。

- (1) (A) に当てはまる適当な語句を記せ。
- (2) k_d が (1)式で表わされるとき、下線部に記した「直線関係」が成立することを示せ。
- (3) 図 2.1 のグラフより必要な値を読み取り、この微生物の熱死滅過程の活性化エネルギー E (J mol^{-1})を求めよ。
- (4) 微生物の熱による死滅は、処理時間を θ (min)、残存細胞濃度を N (cells m^{-3})として次式のように表現できる。

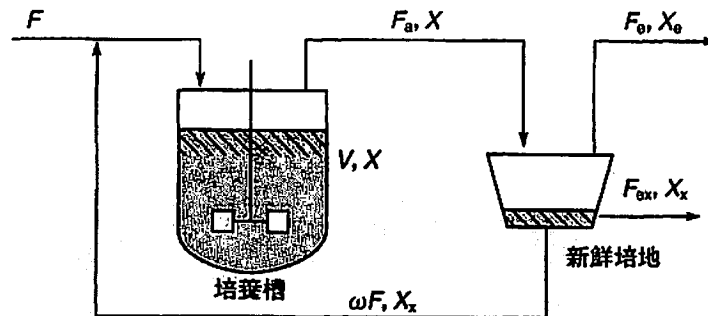
$$dN/d\theta = -k_d N \quad \dots\dots \text{式(2)}$$

熱殺菌後の残存細胞濃度が 1 cell m^{-3} 以下になるまでの時間を θ_d (min)、初期細胞濃度を N_0 (cells m^{-3})として、 k_d と θ_d の関係を表わす式を導け。

- (5) 図 2.1 のグラフより必要な値を読み取り、この微生物を $10^5 \text{ cells m}^{-3}$ の濃度で含むけん濁液を 400 K で殺菌するときの θ_d (min)を求めよ。必要に応じて以下の数字を用いてよい。
 $10^{1/2}=3.16$ 、 $10^{1/3}=2.15$ 、 $10^{1/4}=1.78$ 、 $10^{1/5}=1.58$

問題 3. (配点率 34/100)

定常状態で運転中の細胞循環式単槽連続培養システム (図 3.1) について、以下の問いに答えよ。ただし、図 3.1 に示す記号を適宜使用してよい。



F : 新鮮培地流入速度, F_a : 培養槽からの溢流速, F_e : 分離液流速,
 F_{ex} : 分離槽からの細胞濃縮液流速, ω : 循環比, X : 培養槽内細胞濃度,
 X_e : 分離液の細胞濃度, X_x : 濃縮液の細胞濃度, V : 培養槽容積

図 3.1 細胞循環式単槽連続培養 (小林・本多著 生物化学工学、東京化学同人より)

- (1) 細胞の比増殖速度を μ (h^{-1})、希釈率 F/V を D (h^{-1}) とした時、培養槽における細胞の収支から、以下の式(1)が成り立つことを示せ。

$$\mu = D\{1 + \omega(1 - X_x/X)\} \quad \text{式(1)}$$

- (2) 分離槽での細胞の濃縮比 X_x/X を c とするとき、分離槽における細胞の収支から以下の式(2)が成り立つことを示せ。ただし、分離槽内では細胞の増殖は無視できるものとする。

$$c = \{F_a - F_e(X_e/X)\} / (F_{ex} + \omega F) \quad \text{式(2)}$$

- (3) 分離液中の細胞濃度 X_e ($kg\text{-cells } m^{-3}$) が無視でき、循環液流速 ωF ($m^3 h^{-1}$) が分離槽からの細胞濃縮液流速 F_{ex} ($m^3 h^{-1}$) に比べて大きい時、濃縮比 c と循環比 ω との関係を示せ。ただし、培養槽からの溢流速 F_a ($m^3 h^{-1}$) と新鮮培地流入速度 F ($m^3 h^{-1}$) との関係を踏まえて解答すること。
- (4) 循環比 ω が大きくなると、濃縮比 c はどうなるか答えよ。

基礎生物化学

問題 1. (配点率 33/100)

ポリペプチドの一次構造解析に関わる次の実験方法の原理を説明せよ。

- (1) ブロモシアンによるポリペプチドの選択的切断
- (2) エドマン分解によるポリペプチドのアミノ酸配列決定
- (3) 質量分析によるポリペプチドのアミノ酸配列推定

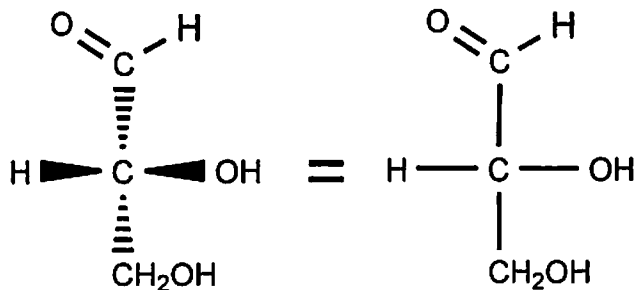
問題 2. (配点率 33/100)

以下の問いに答えよ。

(1) 脂肪酸は、生体脂質の重要な構成要素であり、顕著な構造上の特徴を持つ。

- 1) 二重結合を 2 個持つ代表的な脂肪酸として、リノール酸の構造式を示しなさい。
- 2) 二重結合を 4 個持つ代表的な脂肪酸として、アラキドン酸の構造式を示しなさい。
- 3) 生体脂肪酸が持つ構造上の特徴を 3 つあげ、説明しなさい。

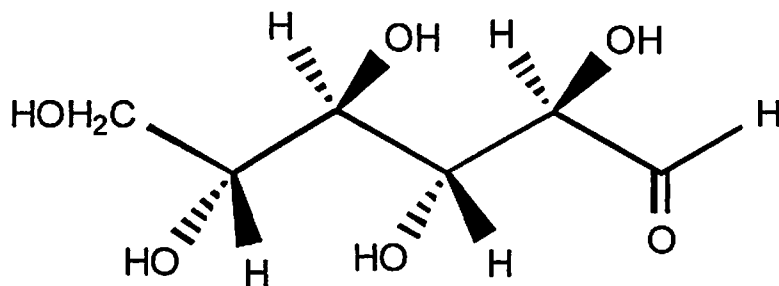
(2) 糖の表記方法には、Haworth 式、Fischer 投影式、立体構造式と各種あるが、線状構造の単糖を表記する際には、Fischer 投影式が一般的であり、以下に示すような関係にある。



- 1) D-Glucose の線状構造を Fischer 投影式で示しなさい。
- 2) D-Glucose は、何個の不斉炭素を持つか、理由を示して答えなさい。
- 3) D-Fructose の線状構造を Fischer 投影式で示しなさい。
- 4) D-Fructose は、何個の不斉炭素を持つか、理由を示して答えなさい。

下に示した構造は、ある 6 単糖を立体構造式で示したものである。

- 5) Fischer 投影式でこの糖を示しなさい。
- 6) D 体か L 体かを、理由を述べて示しなさい。



問題 3. (配点率 34/100)

以下の問いに答えよ。

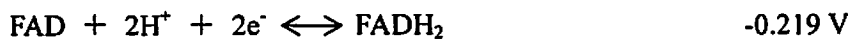
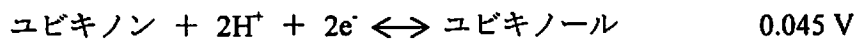
- (1) 次の電子伝達系に関する文章の()の中に適切な言葉(記号は不可)をいれよ。
NADH と FADH_2 は電子伝達系によって酸化される。電子伝達系のタンパク質複合体では酸化還元中心が、(A)の(B)い方から(C)い方へ電子が流れるように順番に並んでいる。電子は複合体Iと複合体IIから(D)を介して、複合体IIIへ流れ、複合体IIIから(E)を介して複合体IVへ移動する。
- (2) 複合体I~IVにおいて酸化される化合物名、還元される化合物名をそれぞれ答えよ。
- (3) 37°C での FADH_2 の酸化を考える。 FADH_2 が5 mM、 FAD が0.2 mM、ユビキノンが0.1 mM、ユビキノールが0.05 mMで存在しているとする、ユビキノンによる FADH_2 の酸化によって、ADPと P_i からATPを合成するのに十分なエネルギーが解放されることを示せ。必要に応じて下記の数字、式を使っても良い。

気体定数 R は $8.315 \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{mol})$

ファラデー定数 F は $96.485 \text{ kJ}/(\text{V} \cdot \text{mol})$

$\ln 0.02 = -3.912$, $\ln 50 = 3.912$

半反応における ΔE° はそれぞれ



$\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP}$ の ΔG は $+30.5 \text{ kJ/mol}$ とする