

大阪大学大学院 工学研究科 生命先端工学専攻
生物工学コース

平成 26 年度入学 大学院博士前期課程入学試験問題

生物工学 I

基礎生物化学、生物化学工学から 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	
------	--

基礎生物化学

問題1 (配点率 25/100)

クロマトグラフィーはタンパク質を精製する代表的な方法のひとつである。(1)～(4)に示す4種の異なるクロマトグラフィーに関して、それらの原理を100字程度で簡潔に説明せよ。

- (1) イオン交換クロマトグラフィー
- (2) 疎水性クロマトグラフィー
- (3) ゲルろ過クロマトグラフィー (サイズ排除クロマトグラフィー)
- (4) アフィニティークロマトグラフィー

問題2 (配点率 25/100)

以下の問いに答えよ。

- (1) 20種類の標準アミノ酸の中で、もっとも分子量の大きなアミノ酸は何か答えよ。また、その構造を示せ。
- (2) かさ高い疎水性アミノ酸が β シート構造を安定化する理由を述べよ。また、プロリン残基が α ヘリックスを不安定化する理由を述べよ。
- (3) ヘモグロビンとミオグロビンの構造や機能における共通点と相違点をそれぞれ述べよ。
- (4) あるタンパク質をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)とゲルろ過クロマトグラフィーで分析すると、そのサブユニット構造を推定できると考えられているが、その根拠を述べよ。
- (5) タンパク質の安定化に寄与する非共有結合(相互作用)にはどのようなものがあるか例を挙げて説明せよ。

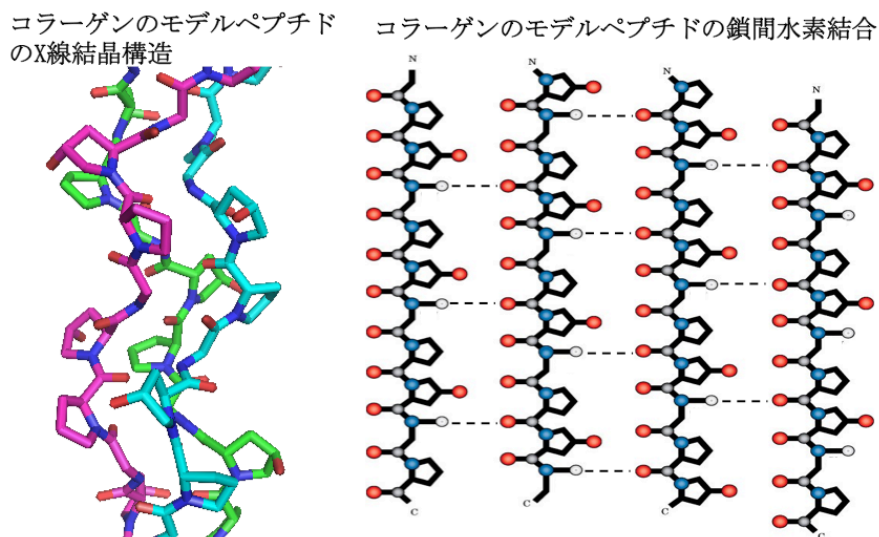
問題3 (配点率 25/100)

(1) 以下はコラーゲンについての説明である。空欄に当てはまる言葉を記載せよ。

コラーゲンは全ての多細胞動物にあり、脊椎動物では最も (a) が多い蛋白質で、細胞外にあり、張力に対し非常に強い不溶性繊維をなす。I型コラーゲンは (b) 本のポリペプチド鎖からなり、1分子は全体で分子量約285kDaの棒状、長さ約3000Å、太さ約14Åである。コラーゲンのアミノ酸組成は特別で、1/3は (c)、15~30%は (d) と (d) の一部が (e) 化された4- (f) である。体内で (d) を (f) に変換する際に必要な酵素は活性に (g) を必要とする。コラーゲンは (h) 構造を形成するが、コラーゲンのポリペプチド鎖の一つ一つはポリ (d) に似た (i) 構造であり、それが (b) 本集まり (j) の多重コイル構造をつくる。

(2) (1) の c、d、f の構造式を記載せよ。

(3) 以下はコラーゲンのモデルペプチドのX線結晶構造(左)と各ペプチド間の結合の模式図(右)である。このような立体構造が形成可能な理由を、各アミノ酸の構造に注目しながら、200字以内で説明せよ。



東京化学同人 ヴォート生化学第4版より一部改変して引用

問題 4 (配点率 25/100)

核酸に関する以下の問いに答えなさい。

核酸はヌクレオチドのポリマーである。普通のヌクレオチドは (a) 種でいずれも窒素を含む塩基が少なくともリン酸基のついた糖に結合している。塩基部分が (b) 誘導体のものを (b) ヌクレオチド、(c) 誘導体のものを (c) ヌクレオチドという。また、核酸は生理的 pH で多価 (d) イオンである。

- (1) (a) には数字を、(b)、(c)、(d) には語句を入れなさい。
- (2) DNA (デオキシリボ核酸) に含まれるヌクレオチドのうち、2つのヌクレオチドの化学構造を糖の 5' 位にリン酸基が付加された構造で名称と共に示しなさい。
- (3) ヌクレオチドの1つであるアデノシン三リン酸 (ATP) の化学構造を示しなさい。
- (4) アデノシン三リン酸の細胞内での役割について述べなさい。
- (5) DNA と RNA (リボ核酸) の構造の違いを列挙しなさい。
- (6) DNA の塩基配列決定法として知られるジデオキシ法について、その原理を説明しなさい。

生物化学工学

問題 1 (配点率 34/100)

ある酵素反応について、さまざまな基質濃度における初発反応速度を測定した結果、下表のような結果が得られた。本酵素による反応速度は、Michaelis-Menten の酵素反応速度式に従うものとして以下の問いに答えよ。

表 1.

初発基質濃度 (mM)	反応初速度 ($\mu\text{M min}^{-1}$)
0.1	1.6
0.25	3.5
0.5	5.5
2.0	6.5
4.0	8.2

- (1) Michaelis-Menten の酵素反応速度式を、反応初速度 v (mM min^{-1})、最大反応速度 v_{max} (mM min^{-1})、Michaelis 定数 K_m (mM)、基質濃度 S (mM) を用いて示せ。
- (2) 表 1 の結果に基づき、Lineweaver-Burk プロット解析を用いて、Michaelis 定数 K_m と最大反応速度 v_{max} を求めたところ、これらはそれぞれ 0.5 mM、 0.01 mM min^{-1} となった。
 - (2-1) Michaelis-Menten の酵素反応速度式を変形し、Lineweaver-Burk プロット解析を用いて Michaelis 定数 K_m と最大反応速度 v_{max} が求められることを説明せよ。
 - (2-2) Lineweaver-Burk プロット解析を用いずに、表 1 に示したデータと Michaelis-Menten 式から、 K_m (mM) と最大反応速度 v_{max} (mM min^{-1}) を求めよ。また、得られた値を Lineweaver-Burk プロット解析により求められた値 ($K_m = 0.5 \text{ mM}$ 、 $v_{\text{max}} = 0.01 \text{ mM min}^{-1}$) と比較し、両者に相違が認められた場合、その相違が何に起因するかについて考察して述べよ。
- (3) 初発基質濃度 1 mM のとき、本酵素反応により 0.5 mM の生産物が生成されるのに要する時間 (min) を求めよ。ただし、本酵素反応では、生産物 1 分子の生成に伴い、基質 1 分子が消費される (すなわち $v = -dS/dt$) のとし、酵素の失活や生成物阻害による反応速度の低下は無視できるものとする。

また、 K_m 、 v_{\max} は Lineweaver-Burk プロット解析により求められた値 ($K_m = 0.5 \text{ mM}$ 、 $v_{\max} = 0.01 \text{ mM min}^{-1}$) を用いること。必要なら下記の数値を用い、解答には導出の過程も示すこと。

$$\ln(2.0) = 0.69、\ln(3.0) = 1.1、\ln(5.0) = 1.6。$$

問題 2 (配点率 33/100)

ダイナミック法による $k_L a$ (酸素移動容量係数, min^{-1}) の測定を行いたい。培養槽における通気停止および通気再開始前後の溶存酸素濃度 C ($\text{mg-O}_2 \text{ L}^{-1}$) の時間的变化を測定したところ、図 1 の様な結果を得た。以下の問いに答えよ。

- (1) 培養槽内の溶存酸素濃度の時間的变化を表わすための物質収支式を示しなさい。なお、上に記載した酸素移動容量係数 $k_L a$ および溶存酸素濃度 C 以外に、物質収支式を表わすために使用した記号はすべて、物質収支式の下にアルファベット順に並べ、単位とともに何を示しているか説明せよ。
- (2) 図 1 に示した溶存酸素濃度 C の時間的变化のデータと(1)で示した物質収支式を用いて酸素移動容量係数 $k_L a$ を求める方法を説明せよ。
- (3) 通気停止後に溶存酸素濃度 C が $0.80 \text{ mg-O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ の速度で $0.5 \text{ mg-O}_2 \text{ L}^{-1}$ まで直線的に減少し、通気再開始後に溶存酸素濃度 C が $1.5 \text{ mg-O}_2 \text{ L}^{-1}$ にまで回復した時、溶存酸素濃度 C の増加速度が $0.25 \text{ mg-O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ であった。これらのデータを使用して、酸素移動容量係数 $k_L a$ (min^{-1}) を求めよ。ただし、培養槽の温度は 30°C に保たれており、飽和溶存酸素濃度は $7.3 \text{ mg-O}_2 \text{ L}^{-1}$ として計算せよ。
- (4) 培養槽内の菌体濃度 X が $2.0 \text{ g-cells L}^{-1}$ であった。この菌体の酸素比消費速度 ($\text{mg-O}_2 \text{ g-cells}^{-1} \text{ min}^{-1}$) を求めよ。

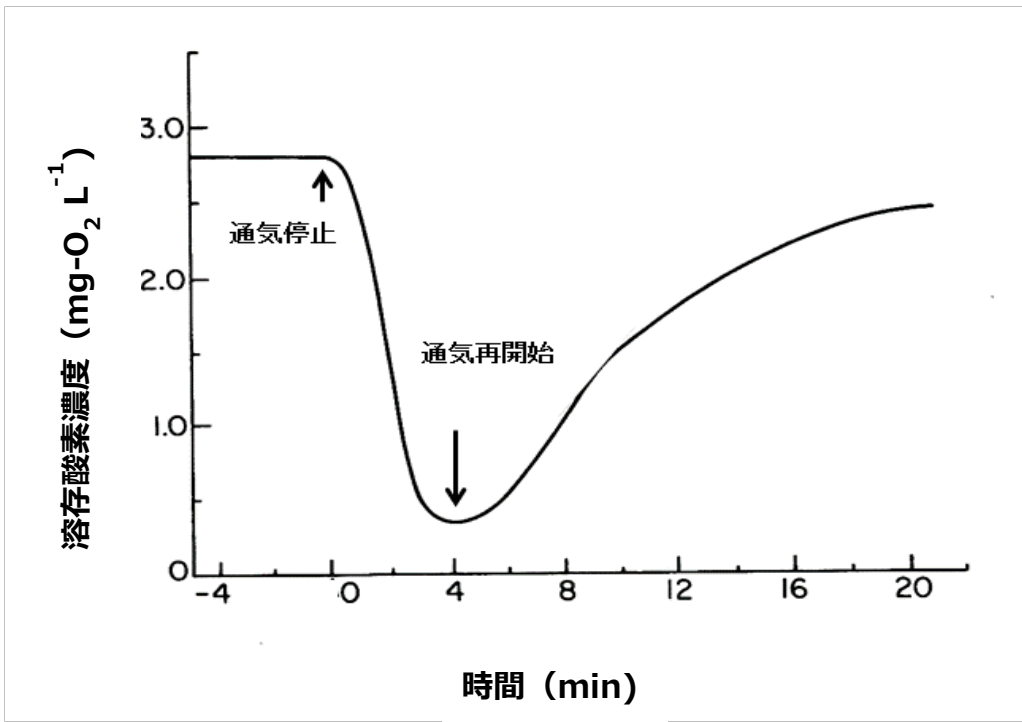


図1 培養槽における通気停止および通気再開始前後の溶存酸素濃度 C (mg-O₂ L⁻¹)の時間的变化。

問題 3 (配点率 33/100)

培養液からの分離精製における固液分離操作を考える。菌体などの懸濁微粒子を含む溶液を多孔性のフィルターに圧入することで固液分離する操作をろ過と呼ぶ。ろ過速度式は次のように表される。

$$\frac{dV}{dt} = \frac{g_c \Delta P}{(R_m + R_c)\mu} A \quad (1)$$

ここで、 V はろ液量、 t はろ過時間、 ΔP はケーキおよびフィルターによる圧力損失、 R_m 、 R_c はそれぞれフィルターおよびケーキによるろ過抵抗、 g_c は重力換算係数、 μ はろ液の粘度を示す。

ろ過面積 A 、単位ろ液当たりのケーキ中の乾燥固形物質量を ρ_0 とすると、ケーキのろ過比抵抗 α_r を使って、 R_c は以下のように表される。

$$R_c = \frac{\alpha_r \rho_0 V}{A} \quad (2)$$

式(2)を式(1)に代入し、 ΔP が一定 (定圧ろ過) の条件で積分すると、次式が得られる。

$$V^2 + 2V V_0 = Kt \quad (3)$$

ここで

$$K = \frac{2A^2 g_c \Delta P}{\alpha_r \rho_0 \mu} \quad \text{および} \quad V_0 = \frac{R_m A}{\alpha_r \rho_0}$$

この定圧ろ過プロセスについて、以下の問いに答えよ。

- (1) 時間 t の経過に伴い、ろ液量 V はどのように変化すると考えられるか。図を用いて説明せよ。
- (2) 時間 t に対するろ液量 V の変化が実験的に得られ、 A 、 μ 、 ρ_0 、 α_r の値が既知である場合、 ΔP および R_m を求める方法を、図を用いて説明せよ。
- (3) ろ過圧 ΔP を 1/2 倍にした場合、ろ過時間 t はどのように変化すると考えられるか。説明せよ。
- (4) ろ過を行う懸濁液中のケーキ濃度が 2 倍となった時、ろ過時間 t はどのように変化すると考えられるか。説明せよ。