

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 博士前期課程入学試験問題

生物工学 II

生物化学、微生物学、分子細胞生物学から2科目選択すること。

解答には、問題ごとに1枚の解答用紙を使用しなさい。

受験番号	
------	--

生物化学

問題1 (配点率 25/100)

光合成の明反応に関する以下の文章を読み、(1)~(6)に答えよ。

植物は、オルガネラ において直列に働く二つの光化学系である と を持っている。二つの光化学系は、(i)空間的にも分離しており、(ii)各光化学系反応中心のクロロフィルの吸収スペクトルのピークが異なる。二つの光化学系は、 を酸化して、 分子を生み出し、 を に還元して、(iii)非循環的な電子伝達鎖を形成する。また、この過程において、(iv)チラコイド膜内外の pH 差が獲得される。

- (1) a~g に該当する用語を、それぞれ、答えよ (略称でもよい)。
- (2) 下線部(i)について、二つの光化学系 b、c が存在する構造体について、それぞれ答えよ。また、分離して存在する利点について答えよ。
- (3) 下線部(ii)の理由により二つの光化学系 b、c の反応中心につけられた名称を、それぞれ答えよ。
- (4) 下線部(iii)について、b、c、d、e、f、g および問(3)の解答の語句を全て使って、図示せよ。
- (5) 下線部(iii)について、光合成を行うある細菌は、これとは異なる電子伝達鎖を形成する。この細菌の名称ならびに、その電子伝達鎖について説明せよ。
- (6) 下線部(iv)は、どのように利用されるか。酵素名を使って簡単に説明せよ。

問題 2 (配点率 25/100)

(1) 以下の化合物の構造を示しなさい。

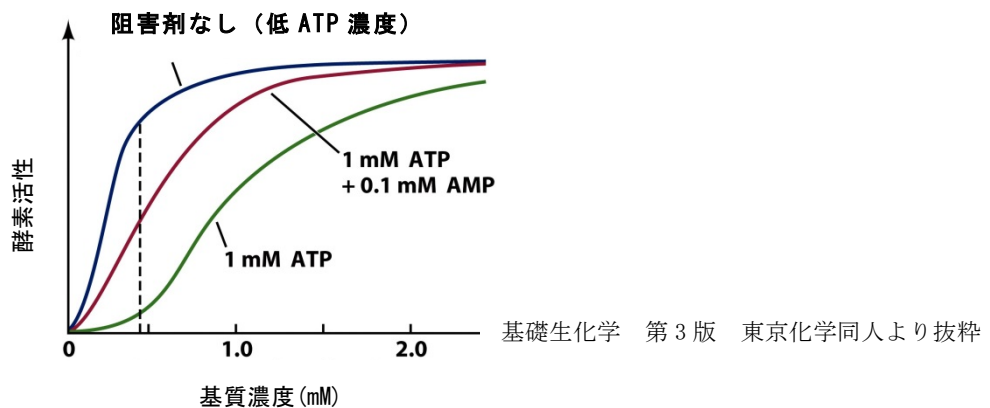
- a) β -D-glucosyl-(1 \rightarrow 4)- α -N-acetyl-D-galactosamine (立体構造式)
- b) maltose (立体構造式)
- c) スフィンゴミエリン
- d) γ -リノレン酸
- e) *sn*-1-acyl-2-arachidonyl-3-phosphatidylinositol-4',5'-bisphosphate

(2) ビタミン D₃ (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 D₃ が生成する経路を、具体的な構造式を示して説明しなさい。

問題3 (配点率 25/100)

筋肉組織での解糖系の反応量（流量）は、エネルギー需要に応じて調節される必要がある。解糖系の10の反応のうち、大きな負の自由エネルギー変化を伴う酵素反応は、酵素A、酵素B、酵素Cの3つの酵素の反応だけである。これらの反応はエネルギー的に不可逆的に進行する反応（非平衡反応）で、代謝系の流量を調節するのに適している。

- (1) 酵素A、B、Cの酵素、基質、反応産物の名前を答えよ。
- (2) 筋組織内で解糖系の流量の調節を主として担っていると考えられるのは、酵素A、B、Cのうちのどれか、理由とともに述べよ。
- (3) 以下の図は各条件下で上記の酵素活性の基質濃度による変化をプロットしたものである。ATPやAMPの濃度によりその酵素活性が影響を受けることがわかる。本酵素におけるATPとAMPの役割を述べよ。また、ATPだけでなくAMPによっても酵素活性が調整されることにどのような意義があるか答えよ。



- (4) 生体のエネルギー需要に応じた解糖系の流量変化は100倍に達すると言われている。仮に生体内の基質濃度を上図の点線の濃度であるとして、ATP、AMPによる制御だけでは100倍もの酵素活性の変化は説明できない。他にどのような調整機構があるか答えよ。

問題 4 (配点率 25/100)

次の問いに答えなさい。

- (1) タンパク質を構成する L-アミノ酸の中で、不斉炭素を 2 個含むアミノ酸をあげ、その構造式を示しなさい。また、不斉炭素に*印をつけなさい。
- (2) 次の I ~ III の生理活性を持つアミノ酸誘導体について、由来するアミノ酸を答え、そのアミノ酸の構造式を示しなさい。また、それぞれのアミノ酸誘導体がどのような機能を有するかについても答えなさい。

I : γ -アミノ酪酸

II : ドパミン

III : ヒスタミン

- (3) グルタチオンは、(A) の α ではなく γ -カルボキシ基が (B) の α -アミノ基とイソペプチド結合したトリペプチドである。

1. A および B のアミノ酸を答えなさい。
2. グルタチオンを構成する A、B 以外のアミノ酸を答えなさい。
3. グルタチオンの構造式を示しなさい。
4. グルタチオンの機能を簡単に説明しなさい。

微生物学

問題 1 (配点率 25/100)

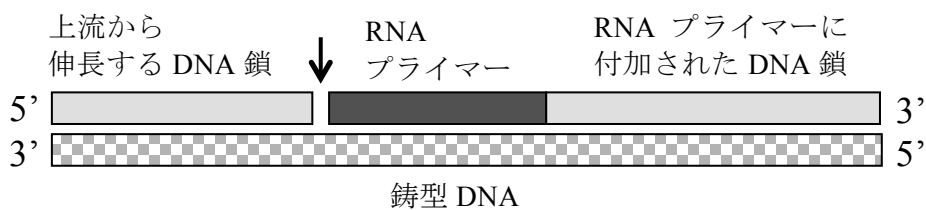
DNA に蓄えられた大量の遺伝情報が正確に複製されることは、細胞が高度な秩序を保つために必要不可欠である。DNA の複製について以下の設問に答えよ。

(1) 大腸菌における DNA 複製を考えたとき、いくつかの分子が重要な役割を担う。以下のタンパク質がもつ役割をそれぞれ 100 字以内で説明せよ。

- a) DNA ジャイレース (トポイソメラーゼ II)
- b) ヘリカーゼ
- c) 一本鎖 DNA 結合タンパク質
- d) RNA プライマーゼ複合体

(2) リーディング鎖およびラギング鎖について、それぞれ 100 字以内で解説せよ。

(3) 複製におけるラギング鎖の合成では、最終的に岡崎断片を連結する必要がある。しかしながら、大腸菌における DNA 複製では、DNA リガーゼは下図の矢印で示したニックを埋めることができない。この理由とともに、岡崎断片の連結過程を説明せよ。



問題 2 (配点率 25/100)

以下の遺伝子工学に関する質問に答えよ。

(1) 以下の文章の空欄を埋めよ。

DNA のホスホジエステル結合を切断する酵素である **a** には 2 つのタイプがあり、1 つは DNA 鎖の末端からのみヌクレオチドを除去する **b**、もう 1 つは DNA 鎖内部の結合を切断する **c** である。**c** の 1 つである制限酵素は、特定の短い DNA 配列を認識して切断するため、遺伝子工学に多用される。大部分の制限酵素は **d** 由来であり、認識配列において二本鎖 DNA を切断する。**d** 自身のゲノムにも認識配列が存在するが、認識配列の一部が **e** されており、切断から保護されている。切断後、制限酵素の種類に応じて 2 種類の DNA 末端構造が生じる。1 つは **f** を形成するタイプであり、もう 1 つは **g** を形成するタイプである。

(2) 2 つの制限酵素 X および Y を用いて、6.4 kb の環状 DNA を切断した。X で切断すると、3.4 kb および 3.0 kb の断片を得た。Y で切断すると、2.4 kb、2.1 kb、1.3 kb、および 0.6 kb の断片を得た。次に、X と Y を混合した酵素溶液で切断すると、2.4 kb、2.1 kb、0.8 kb、0.5 kb、0.4 kb、および 0.2 kb の各断片を得た。この環状 DNA について、酵素 X および Y が切断する位置とその間の塩基対数 (kb) を示した地図を作成せよ。

(3) 生理活性を示すタンパク質を発現する真核微生物由来の染色体 DNA 断片 A (下記の図参照) を同定した。

(3-1) A 上に存在する責任遺伝子 (以後、B 遺伝子とする) を推定し、その開始コドンの最初のヌクレオチドの番号と終止コドンの最後のヌクレオチドの番号を答えよ。ただし、最も大きなオープンリーディングフレームを B 遺伝子とし、B 遺伝子はイントロンを持たないものとする。

(3-2) 次に、開始コドンから終止コドンまでを含む B 遺伝子の両末端に、それぞれ適切な制限酵素認識配列を付加した DNA 断片を、PCR 法を用いて調製す

る。そして、PCR 産物とプラスミドベクター（下記の図参照）を当該の制限酵素で消化しライゲーションを行うことによって、B 遺伝子をベクターの多重クローニング部位のいずれか（下記の図参照）にクローン化することにした。そのための B 遺伝子増幅用 PCR プライマーセット（それぞれ、クローン化に必要な 6 ヌクレオチドの適切な制限酵素認識配列を持ち、合計 26 ヌクレオチドの配列）を 5'から 3'の向きで答えよ。ただし、B 遺伝子の開始コドン側が必ず *EcoR* I 側に来るようにクローン化するものとする。

染色体 DNA 断片 A :

1: 5'-GCCATTTTTTA GTTTATGGTT TAGGGGAAGT TTTTTGCCAC CAAAACGTT
 51: TAAAGAAGGA AAAGTTGTTT CTAAAATGA GTGTGTCTAC CGCCAAGAGG
 101: TCGCTGGGTG TCGTTGGATC CTCTCCGGGT TTAGCGGAGT TTGAGGGTTC
 151: AAAATCTCGT CACGGTGAAA TAGAAAGTGA AAGACGTACT GGTACACGTG
 201: ATGGCGAGGA TAGCGGTACC GAGCAACCGA AGGAATTGGA GAAGAAGGTA
 251: CAAAGTTTAG AGTAAAGCGG GAACTTTATG GAAAAC TGGG TAACCGAAAG
 301: AACTTTTTTCT ATAAT-3'

プラスミドベクター :

多重クローニング部位

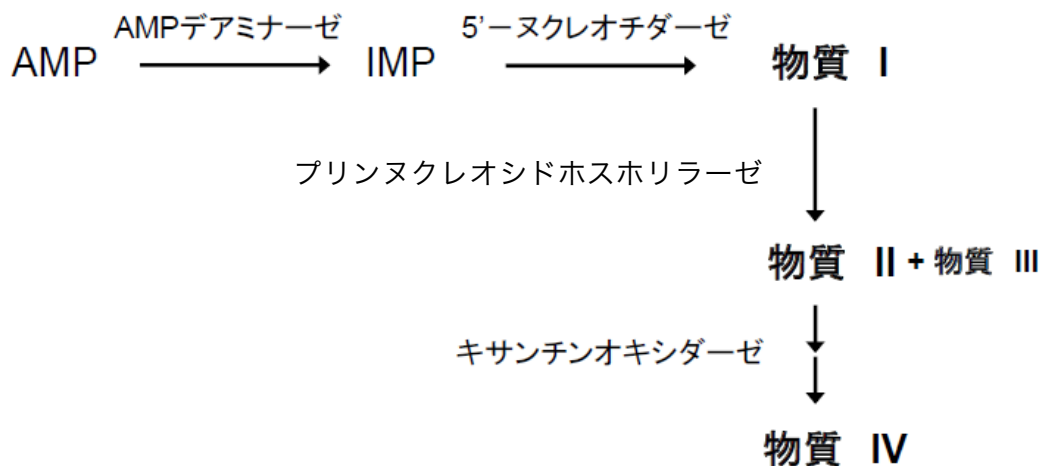
5'-----GAATTC GGATCC AAGCTT GGTACC-----3'
EcoR I *Bam*H I *Hind* III *Kpn* I

問題3 (配点率 25/100)

ある微生物における AMP の代謝経路について、下記の文章を読み、設問に答えよ。

AMP は、AMP デアミナーゼの働きにより IMP となる。IMP は、5'-ヌクレオチダーゼにより物質 I となり、さらに物質 I はプリンヌクレオシドホスホリラーゼにより物質 II と物質 III へ分解される。物質 II は、キサントキナーゼにより物質 IV へと変換される。物質 II は、酵素 V により 5-ホスホリボシル 1 α -ニリン酸と反応して IMP となる。

- (1) 物質 I と II の構造式を描け。
- (2) 物質 IV は何という物質か。物質名を英語で示せ。
- (3) 5'-ヌクレオチダーゼは、AMP も基質とする。AMP を基質とした時どのような反応産物が生じるか。生じる物質名を書け (日本語でよい)。
- (4) 下線部の反応に関わる酵素 V の名前を記せ。
- (5) 下線部の反応は生体内でどのような意義があると考えるか。考えを 40 字程度で述べよ。
- (6) ヒトの場合、酵素 V の活性が低下したレッシュ・ナイハン症候群は、ほとんど男性だけで発症する伴性劣性遺伝病である。伴性遺伝について、50 字程度で説明せよ。



問題4 (配点率 25/100)

以下の生産に必要な微生物を学名で答えよ。

- (1) バイオエタノール
- (2) 酢酸
- (3) 醤油
- (4) 清酒
- (5) 乳酸飲料
- (6) 納豆
- (7) ペニシリン

分子細胞生物学

問題 1 (配点率 35/100)

以下の文章と図を参考に、(1)と(2)の間に答えよ。

(1) 細胞膜の構造に関して図を参考にしつつ以下の問いに答えよ。

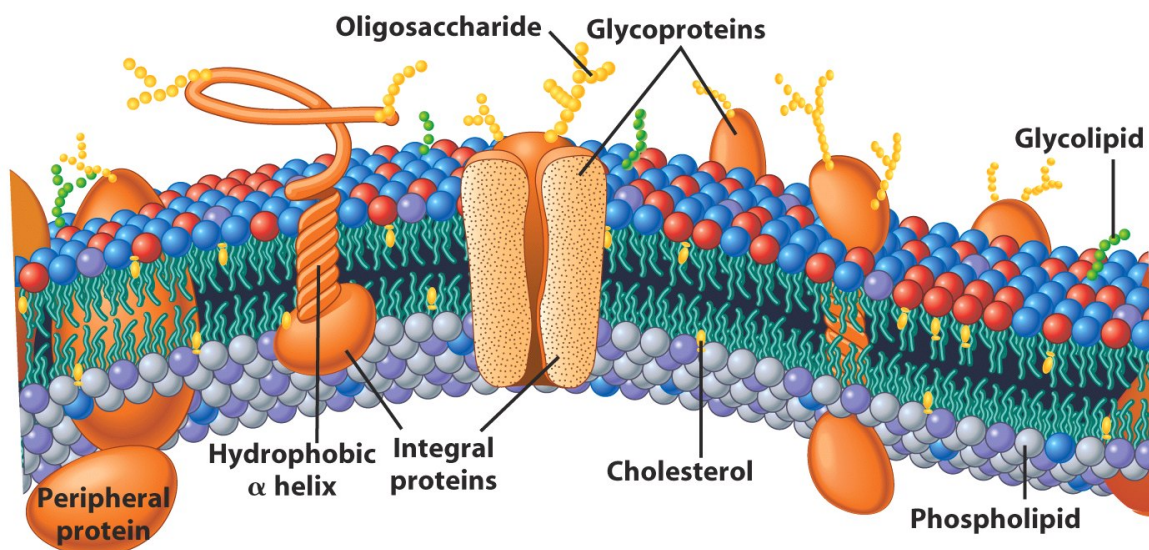


Figure 4-4 part 3 Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

(1-1) 以下の文章の括弧内の数字に対応する語句を答えよ。

上図は 1960 年代後半に行われた実験によって導かれた膜構造の概念を示したものであり、1972 年カリフォルニア大学サンディエゴ校の S. J. Singer と G. Nicolson が (①) モデルとして提唱したものである。30 年以上、膜生物学の“セントラルドグマ”となったこのモデルでは、膜の基本としての (②) の位置づけは変わらないが、脂質の物理的な状態に目が向けられた。それ以前のモデルと異なり、膜の 2 重層は (③) 状であり、脂質分子は膜の平面内で主に、(④) 方向に移動可能である。

(1-2) 以下に挙げる上図中の用語を日本語に翻訳し、それらタンパク質の膜との相互作用、構造、機能などにおける特徴を100字以内で簡潔に記せ。

- 1) Peripheral protein
- 2) Integral protein

- 3) 上図には含まれていないが膜タンパク質を3つのグループに分類した際に上の2つのグループ以外に分類されるタンパク質グループについてその名称を日本語あるいは英語で記し、上と同様にその特徴について簡潔に記せ。

(2) 分泌タンパク質の合成に関して次の問いに答えよ。

(2-1) 粗面小胞体における膜結合型リボソームでの分泌タンパク質の合成に関するモデル図である下図を参考に、分泌タンパク質の合成過程を200字以内で述べよ。

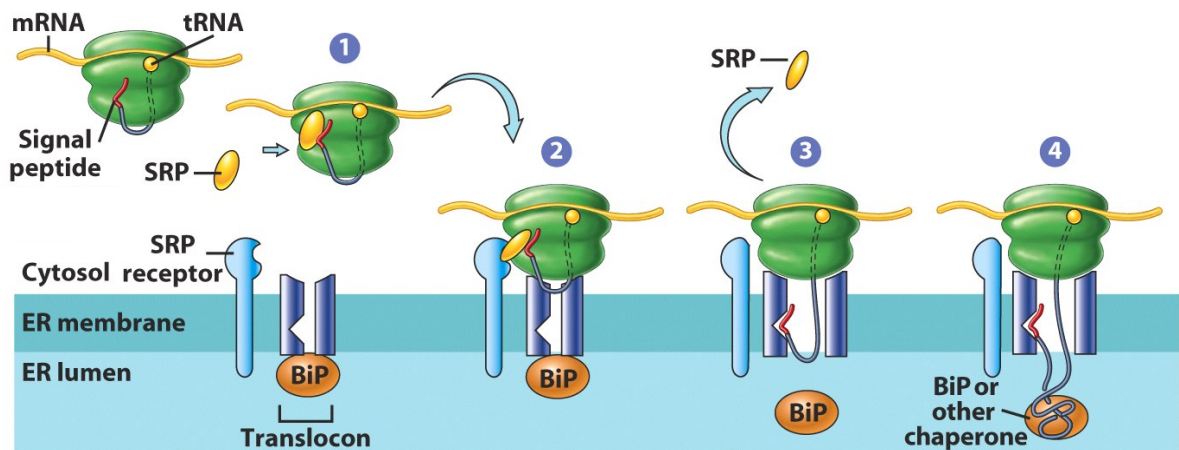


Figure 8-12 Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

(2-2) 上記①から④までの図を参考に1)～3)の問いについて各々50字以内で答えよ。

- 1) Signal peptide は SRP との相互作用の後、ポリペプチドからどのようにして取り除かれるかについて述べよ。
- 2) 分子シャペロンの働きについて述べよ。
- 3) Gタンパク質の2つのコンフォメーションについて述べよ。

問題 2 (配点率 30/100)

細胞内の情報の流れに関する以下の文章を読み、問いに答えよ。

遺伝子と遺伝子がコードするポリペプチドの間を仲介する RNA は (①) RNA と呼ばれる。(①) RNA は遺伝子を構成する 2 つの DNA 鎖のうち一方に相補的なコピーとして作られ、この反応を転写という。細胞は (①) RNA を用いることで情報の貯蔵と利用を別々に扱うことができる。タンパク質は細胞質中で翻訳とよばれる一連の複雑な過程を経て合成される。この合成に関与する細胞質の装置は (②) とよばれ、(③) RNA とタンパク質から構成されている。また (④) RNA はタンパク質合成に必要な第三の主要な RNA のグループであり、(①) RNA のヌクレオチド配列上の情報をポリペプチドのアミノ酸配列に翻訳するのに必要である。真核細胞においては、(①) RNA や (④) RNA は転写される DNA と同じ長さの一次転写産物が合成されたのちに、速やかにより小さい機能 RNA に (⑤) される。この過程ではそれぞれ (⑥) RNA、(⑦) RNA と呼ばれる RNA がタンパク質と (⑧) を作り反応に関与している。

- (1) ① ~ ⑧に当てはまる最も適切な用語を英語 (略号は不可) で答えよ。
- (2) 真核細胞において、一次転写産物から最終的な機能を有する (①) RNA が合成されるまでの一連の過程の発見から、RNA ワールドの考えが急速に広まった。このきっかけとなった現象は何か。また RNA ワールドについて説明せよ。
- (3) 外来性のもしくは不必要な遺伝物質から生体を守るための防御機構として生じたと考えられる RNA が知られている。この RNA の名称を記しその機能について説明せよ。
- (4) 染色体の構造維持や機能の発現においても RNA は重要な働きをしている。DNA 複製以外の例を 1 つあげ、説明せよ。

問題3 (配点率 35/100)

以下の文章を読み、問いに答えよ。

- (1) ホルモン、神経伝達物質等の細胞外シグナル伝達分子(1次メッセンジャー)は、通常は標的細胞表面にある特定の受容体タンパク質に認識される。受容体タンパク質は1次メッセンジャーと高親和性で結合し、細胞の外側表面での相互作用を細胞内の変化に変換する。細胞表面受容体タンパク質は、細胞外シグナルの変換方法により、¹⁾ Gタンパク質共役型受容体、²⁾ 受容体型チロシンキナーゼ、および³⁾ リガンド開閉チャネルの3群に概ね分類される。Gタンパク質共役型受容体は(①)本の膜貫通ヘリックスを有し、細胞内ドメインにおいて、(②)量体Gタンパク質と相互作用して働く。受容体型チロシンキナーゼは、1次メッセンジャーの結合により、通常(③)量体化し、続いて受容体の細胞質領域にあるプロテインキナーゼドメインが活性化する。活性化するとすぐに細胞質の基質タンパク質を(④)し、それにより基質タンパク質の(⑤)、(⑥)、或いは細胞内での他のタンパク質と相互作用する能力を変化させる。リガンド開閉チャネルは1次メッセンジャーが結合することにより開閉し、特定イオンの(⑦)を変化させる。

(1-1) 上記の文章中の下線部の用語を英語で記入せよ。

- 1) Gタンパク質共役型受容体、2) 受容体型チロシンキナーゼ、3) リガンド開閉チャネル

(1-2) ①から⑦のそれぞれにあてはまる語句を一つ答えよ(日本語可)。

- (2) 図は1次メッセンジャーである5-ヒドロキシトリプタミン(5-HT)でアメフラシの感覚神経細胞全体を刺激した後の2次メッセンジャーであるcAMPの細胞質での濃度変化を顕微鏡下で捉えたタイムラプス画像である(灰色は低cAMP濃度、白色は高cAMP濃度を示す)。

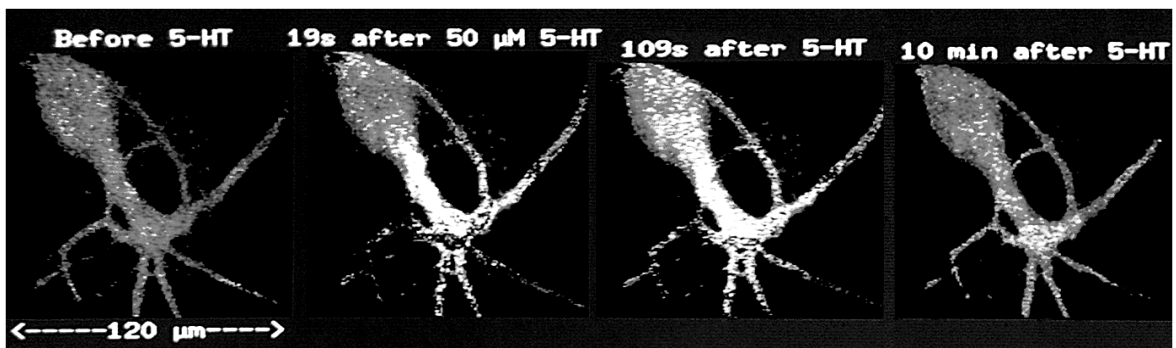


Figure 15-5 Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

- (2-1) この画像データからcAMPの細胞内動態について何が考察できるか。150字以内で答えよ。

- (2-2) 細胞内 cAMP の解析法として、図のような顕微鏡を利用して可視化する方法の他に放射性同位体や抗体等を用いる生化学的な方法がある。可視化による方法と生化学による方法によって得られる情報の違いについて 150 字以内で述べよ。
- (2-3) 光学顕微鏡は可視光 (400-700 nm) を利用して像を拡大観察する機器である。その空間解像度 (d) は「分離して解像可能な試料中の 2 点間の距離」として定義され、次式で規定される。

$$d = 0.61\lambda/NA$$

ここで、 λ は光の波長、 NA は対物レンズの開口数を表し、 $NA=n \cdot \sin\theta$ の関係にある。ただし、 n は試料と対物レンズの間に存在する媒質の屈折率、 θ は対物レンズで捉えられる光の円錐角の 2 分の 1 の角度を表す。

上式をもとに、最短波長の可視光を利用し、水浸対物レンズの開口数を最大にした時の光学顕微鏡の解像限界を求めよ (ただし、水の屈折率を 1.33 とする)。また、細胞質中に存在する 2 分子の cAMP を上記の条件で空間分解することができるおおよその最大 cAMP 濃度を求めよ (円周率は 3、アボガドロ数は 6×10^{23} を用いて構わない)。