

平成 27 年度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 34/100)

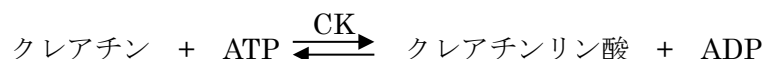
核酸に関する以下の問いに答えなさい。

ワトソン・クリックの DNA 構造モデルでは、2本のポリヌクレオチド鎖が一つの共通軸のまわりに逆平行で、の構造をなしている。そのポリヌクレオチド鎖のには塩基が結合し、2本の鎖の間でそれぞれの塩基は結合を介して塩基対を形成し、安定な構造をとる。ワトソン・クリック構造では塩基対は2通りしかない。この塩基対を塩基対という。

- (1) では適切な語句を選ぶと共に、からの空欄を適切な語句で埋めなさい。
- (2) DNA の 5'末端と 3'末端の各構造を適当なヌクレオチドを用いて、示しなさい。塩基の名称も同時に記しなさい。
- (3) DNA は生理的 pH で多価陰イオンである。この理由について説明しなさい。
- (4) DNA のプリン、ピリミジン塩基は互変異性を示す。この相互変換について、説明しなさい。
- (5) 多様な機能を示す RNA ではあるが、タンパク質の生合成に関与する次の RNA が知られている。この3つの RNA を用いてタンパク質の生合成について、簡潔に説明しなさい。
【メッセンジャーRNA (mRNA)、リボソーム RNA (rRNA)、転移 RNA (tRNA)】

問題 2. (配点率 33/100)

クレアチンキナーゼ(CK)は骨格筋内での重要なエネルギー貯蔵物質であるクレアチンリン酸を生成する反応を触媒する酵素である。この酵素の触媒機能に関わるアミノ酸残基について調べるために、ニワトリ筋肉由来 CK を用いて下記の実験を行った。実験の内容を読んでその後の問に答えよ。



(1) 化学修飾試薬 *N*-エチルマレイミドを CK と反応させ、CK のシステイン残基を化学修飾し、修飾部位の同定を行ったところ、ニワトリ筋肉由来 CK はシステイン残基を 4 つ持っているにもかかわらず、278 番目のシステイン残基だけが修飾されていた。なぜこのような結果になったと考えられるか答えよ。

(2) 上記 (1) の実験で同定された 278 番目のアミノ酸をグリシン、セリン、アスパラギン、アスパラギン酸にそれぞれ置換した部位特異的変異 CK を合計 4 種類(C278G, C278S, C278N, C278D) 作成した。変異 CK の酵素活性を測定した所、その酵素活性はいずれも野生型 CK のものに比べて低かった。このことからどのようなことが言えるか。

(3) 変異 CK のうち C278N と C278D の酵素活性を比較した所、野生型に比べ酵素活性は低いものの C278D は C278N の 12 倍の酵素活性があった。この実験結果はどのように説明できるか。

(4) 変異酵素 (C278G, C278S) と野生型酵素について速度論的測定を行った結果を下表に示す。ここで K_d は基質 (クレアチンまたは ATP) が単独で CK に結合する場合の定数、 K_M はどちらか一方の基質が既に結合している酵素に対するもう一方の基質の定数である。①野生型の K_d , K_M を比べて CK の基質結合について言えることはなにか答えよ。②変異酵素と野生型酵素の K_d , K_M を比べて本酵素の C278 が基質結合において果たす役割は何であるか答えよ。

酵素	クレアチン		ATP		V_{max} , $\mu\text{mol}/\text{min}$
	K_d , mM	K_M , mM	K_d , mM	K_M , mM	
野生型	19.6	8.9	0.70	0.32	60.7
C278G	64	273	0.27	1.13	6.0
C278S	92	209	0.31	0.70	2.0

※Furter R. et al. Biochemistry 1993, 32, 7022-7029 から一部改変して引用

問題3 (配点率 33/100)

(1) 以下は3種類の酵素の阻害形式に関する記述である。空欄にあてはまる言葉を記載せよ。

(①) 阻害では酵素の基質結合部位に阻害剤が結合する。(①) 阻害剤はふつう構造が基質に似ているので活性部位に特異的に結合するが、作用は受けない。例えば、(②) サイクルのメンバーでコハク酸をフマル酸に変える酵素、(③) はマロン酸で (①) 阻害される。

(④) 阻害とは阻害剤が酵素-基質複合体に結合するが遊離の酵素には結合しない場合である。(④) 阻害剤は基質に似ている必要はなく、活性部位をゆがませて酵素を不活性化するのであろう。

(⑤) 阻害の場合、阻害剤は酵素にも酵素-基質複合体にも結合する。

(2) コハク酸、フマル酸およびマロン酸の化学構造式を記載せよ。

(3) 以下は阻害剤が存在しない場合の酵素の反応式である。ここに阻害剤が加わり、阻害が起こった際の反応式を3種類全てについて記載せよ。解答には①、④または⑤のいずれの阻害についての式か記載の上、反応式を記載すること。

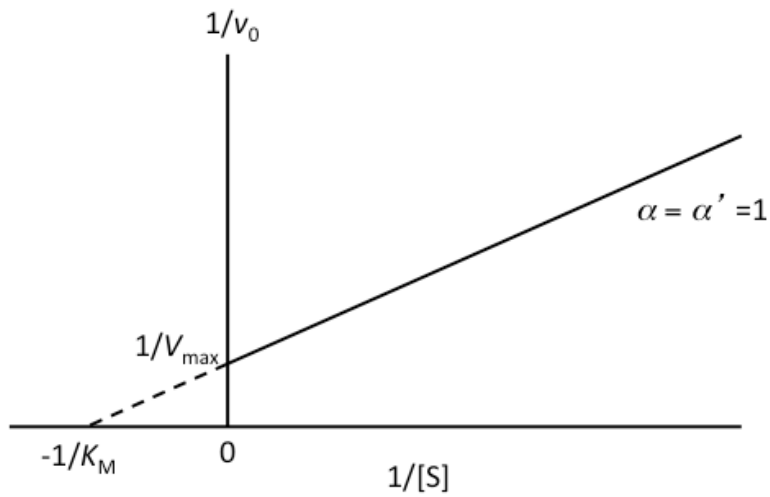


(4) 以下はミカエリス・メンテン型酵素に対する阻害剤の作用に関する表である。

阻害形式	ラインウィーバー・バーク式
阻害剤なし	$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$
①阻害	$\frac{1}{v_0} = \frac{\alpha K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$
④阻害	$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{\max}}$
⑤阻害	$\frac{1}{v_0} = \frac{\alpha K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{\max}}$

ここで、阻害剤濃度 I と阻害定数 K_I または K_I' を用いると、 α と α' はそれぞれ $\alpha = 1 + [I]/K_I$ 、および $\alpha' = 1 + [I]/K_I'$ である。従って、阻害剤の濃度を変化させ α 値を調べれば、阻害定数を求めることができる。以下に阻害剤がない場合のラインウィーバー・バークプロットを图示した。

ここで、①阻害、④阻害、および⑤阻害のそれぞれの場合について、 $\alpha=2$ 、 $\alpha'=1.5$ である際のラインウィーバー・バークプロットを図示せよ。なお、 K_M と V_{max} は記号のまま使用した上で、プロットが横軸と縦軸に交差する点の値をプロット中に記載すること。



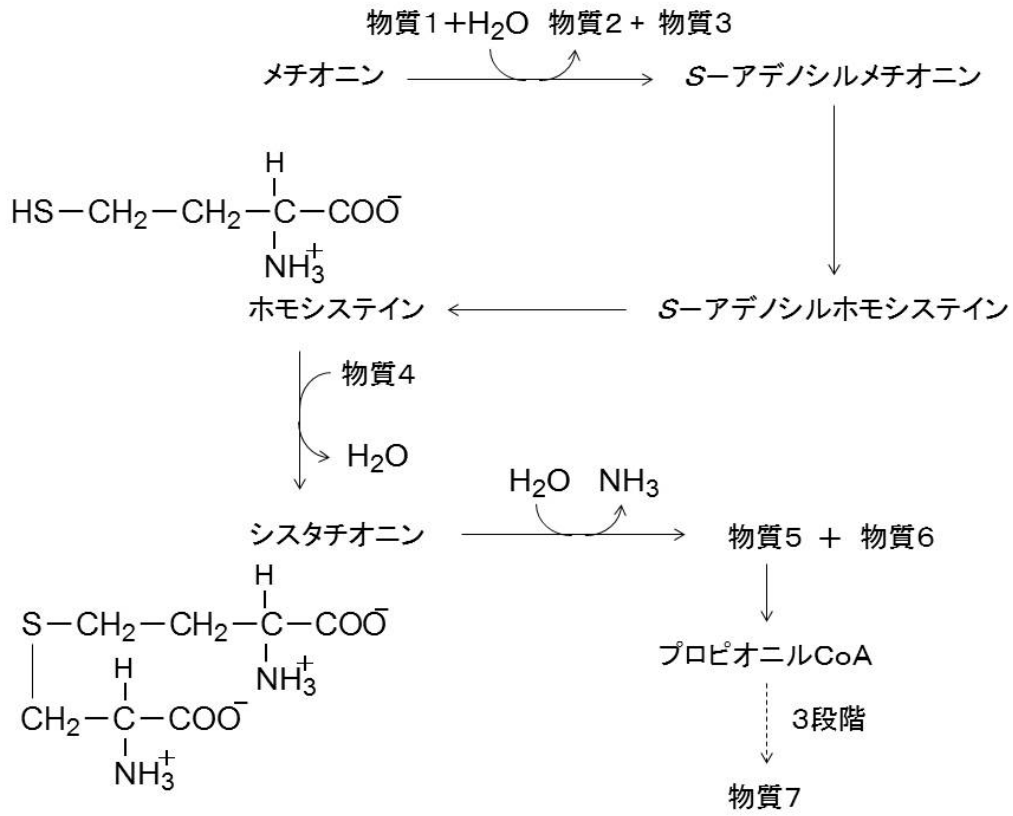
阻害剤がない場合のラインウィーバー・バークプロット

微生物学

問題 1. (配点率 34/100)

メチオニンの分解経路を図に示している。下記の設問に答えよ。

- (1) メチオニンの構造式を書け。
- (2) 物質 1 は何という物質か。物質名を示せ。
- (3) 物質 4 はどのような物質と考えられるか。物質名を示せ。
- (4) 物質 6 はどのような物質と考えられるか。構造式を示せ。
- (5) 物質 5 は、酵素によりプロピオニル CoA へと変換される。その後、3 段階の酵素反応により物質 7 となる。物質 7 は、クエン酸回路の代謝中間体である。物質 7 の物質名を示せ。
- (6) 図中の経路には、メチル基の供与体あるいは「生体のメチル化剤」としての機能を持つ物質がある。適当な物質名を図の中から選んで示せ。なお、例えば、物質 1 が該当する場合、具体的な物質名を答えよ。
- (7) プロピオニル CoA は、炭素脂肪酸のベータ酸化経路における最終産物でもある。に入る用語として、「偶数」か「奇数」かのどちらかである。どちらかを選び、示せ。脂肪酸代謝のベータ酸化経路について、100 字以内で説明せよ。



問題 2. (配点率 33/100)

タンパク質をコードする遺伝子領域の突然変異には、アミノ酸を別のアミノ酸に置き換える 突然変異、アミノ酸のコドンを終止コドンに置き換える 突然変異、コドンの読み枠をずらす 突然変異、および塩基配列に変化を及ぼすがアミノ酸配列には変化を与えない 突然変異がある。このような突然変異のうち、変異がヘテロ接合でもホモ接合でも表現型として現れれば、その変異は であるといい、高活性化や異所性発現を示す機能獲得型の突然変異と考えられる。一方、変異がホモ接合の場合のみ表現型として現れれば、その変異は であるといい、遺伝子機能を喪失させる変異と考えられる。ただし、機能喪失型変異をヘテロ接合で持つ場合でも表現型に現れることがあり、表現型が野生型のホモ接合と機能喪失型のホモ接合の表現型の中間になる場合を であるという。

- (1) から までの空欄を埋めよ。
- (2) 下線部に関して、大腸菌などの一倍体微生物では、生育に必須の役割を果たす遺伝子の突然変異を取得することが難しいことから、条件突然変異が利用される。よく利用される条件突然変異を例にして 100 字程度で条件突然変異となる理由を説明せよ。
- (3) 突然変異処理により、一倍体の出芽酵母のトリプトファン要求性変異株 $\text{TrpA} \sim \text{TrpG}$ (それぞれの変異の遺伝子型は $\text{trpA} \sim \text{trpG}$) を取得した。相補性試験の結果、以下の表に示す結果を得た。変異を相補群ごとに分けて示せ。また、本実験から、幾つの遺伝子がトリプトファン生合成に関与しているのか述べてよ。ただし、変異株 $\text{TrpA} \sim \text{TrpG}$ は単一遺伝子変異株であり、変異がホモ接合の場合のみ要求性を示すものとする。

変異	<i>trpA</i>	<i>trpB</i>	<i>trpC</i>	<i>trpD</i>	<i>trpE</i>	<i>trpF</i>	<i>trpG</i>
<i>trpA</i>	—	+	+	+	—	+	+
<i>trpB</i>		—	+	+	+	+	—
<i>trpC</i>			—	+	+	+	+
<i>trpD</i>				—	+	—	+
<i>trpE</i>					—	+	+
<i>trpF</i>						—	+
<i>trpG</i>							—

+ : 相補された — : 相補されなかった

- (4) トリプトファンは、その中間体である α 、 β および γ を経て生合成される ($\alpha \rightarrow \beta \rightarrow \gamma \rightarrow$ トリプトファン)。トリプトファン要求性変異株 TrpB はトリプトファン無添加培地に α あ

るいは β を添加しても生育できないが、 γ あるいはトリプトファンを添加すると生育できた。変異株 **TrpC** はトリプトファン無添加培地に α を添加しても生育できないが、 β 、 γ あるいはトリプトファンを添加すると生育できた。変異株 **TrpD** は変異株 **TrpB** と同様の挙動を示した。それぞれの変異株の原因遺伝子 (*TRPB*、*TRPC*、*TRPD*) がトリプトファン生合成経路の酵素をコードとした場合、トリプトファン生合成経路の矢印の上にその反応を行う遺伝子を配置せよ。また、 β から γ へと変換する酵素の性質について、この遺伝情報から推定できることを 100 字以内で述べよ。

問題 3. (配点率 33/100)

下記の文章を読み、(1)~(4)の設問に答えよ。

酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では、減数分裂の四分子が子嚢とよばれる袋状の構造の中に入っている。減数分裂の産物は (ア) とよばれる生殖細胞に含まれ、1 個の減数分裂細胞から形成された (ア) の全てが子嚢の中に一緒に入っている。順序づけられていない四分子について、2 対の対立遺伝子 (AB, ab) が分離している場合、四分子には 3 種類の分離パターンがありうる。例えば、 $AB \times ab$ の交配について考えた場合、四分子の遺伝子型は (イ)、(ウ) および (エ) となる。

- (1) (ア) の名称を答えよ。
- (2) (イ)、(ウ)、(エ) の遺伝子型を記載すると共に各々の分離パターンの名称を答えよ。

遺伝子型 abc および ABC を持つ *Saccharomyces cerevisiae* を交配して、3 つの遺伝子の連鎖関係の解析を試みた。交配の結果、以下のような四分子が得られた。

四分子の種類	四分子の遺伝子型				四分子の数
I	abc	abc	ABC	ABC	168
II	AbC	AbC	aBc	aBc	172
III	abc	ABC	ABC	abc	65
IV	ABC	AbC	Abc	aBc	58

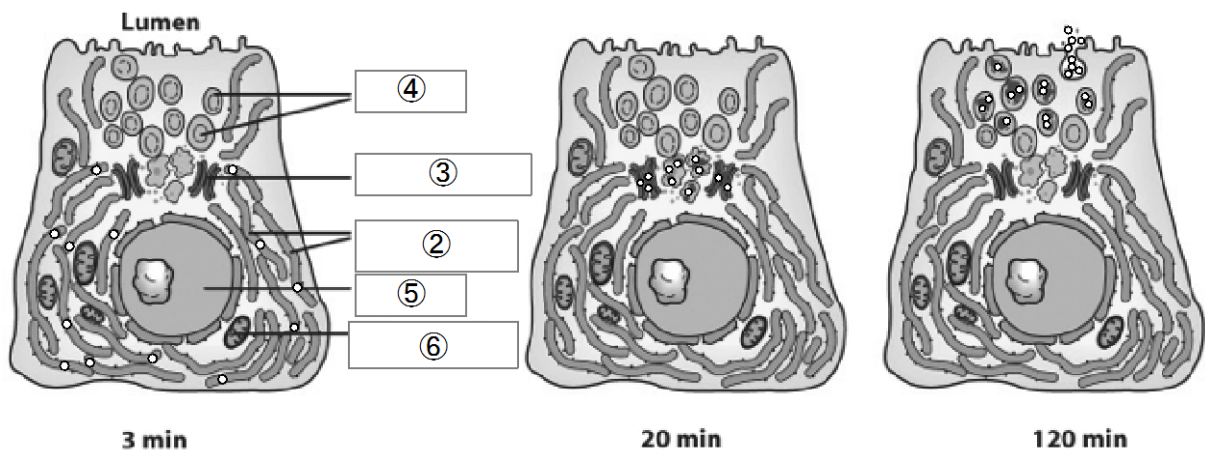
- (3) 得られたデータから、連鎖関係にある遺伝子はどれとどれか理由も含めて答えよ。
- (4) 連鎖した遺伝子について、地図距離を求めよ。有効数字は小数点以下一桁とし、単位も記載すること。ただし、遺伝地図距離はその区間で一カ所の乗換えが起こった細胞の割合の 1/2 と定義する。

分子細胞生物学

問題 1. (配点率 35/100)

以下の記述を読み問題に答えなさい。

George Palade らは、分泌タンパク質の合成場所及び分泌経路を明らかにするため、次のような実験を行った。膵臓の腺房細胞を放射性同位体で標識したアミノ酸に 3 分間さらし、すぐに放射性同位体で標識したアミノ酸を洗い流した後に、非標識のアミノ酸を含む培地で培養した。このような実験は“パルス (①) 実験”とよばれる。下図は、異なる時間後の細胞のオートラジオグラフィーにより得られた結果の模式図である。3 分後 (洗いの直後) の結果から分泌タンパク質の合成場所が (②) であることが判明した。20 分、120 分後の結果から、分泌タンパク質は (③)、(④) を介して膵臓の管に放出されていることが観測された。



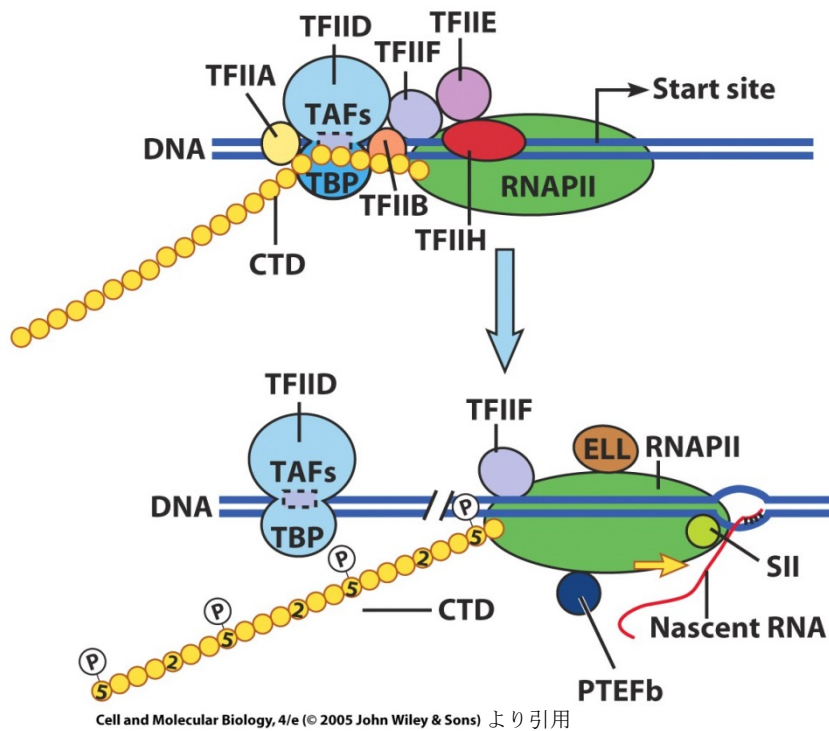
Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons) より一部改変して引用

図：“パルス (①) 実験” 結果の模式図。白抜きの丸 (o) は放射能標識物質を示している。

- (1) 括弧①～④に当てはまる最も適切な用語を答えなさい。
- (2) ⑤と⑥の細胞内小器官の名前を英語で記入しなさい。
- (3) 放射能標識アミノ酸中での培養時間をより短くするもしくは、より長くするとどのような結果が得られると推定されるか。それぞれについて 50 字程度で述べなさい。
- (4) 上記の実験から、タンパク質が合成される速度と合成されたタンパク質が (③) へ輸送される速度のどちらが早いと考えられるか。その理由と共に 100 字程度で述べなさい。

問題 2. (配点率 35/100)

下図を参考に、問いに答えなさい。



(1) 以下の文章の括弧内の数字に対応する語句を答えなさい。

上図は転写装置の概念を示したものであり、転写の開始は RNAPII の C 末端ドメインの各 7 残基のアミノ酸配列の繰り返しにおける 5 番目のセリン残基の (①) を伴う。①は、転写装置が (②) や (③) から離れる引き金になっていると考えられている。③から離れる事で RNAPII の (④) が大きく変わり、(⑤) を合成する酵素へと変化する。

(2) 以下に挙げる上図中の用語を略さずに英語で書きなさい。そして日本語訳をつけ、その構造あるいは機能について100字程度で記しなさい。

1) TBP :

2) RNAPII :

(3) 転写され、成熟したメッセンジャーRNAの構造について先ず模式図を書いて各領域の名称を記入しなさい。またその特徴を5点に取りまとめて述べなさい。

問題 3. (配点率 30/100)

(1) 以下の文章を読み、問いに答えなさい。

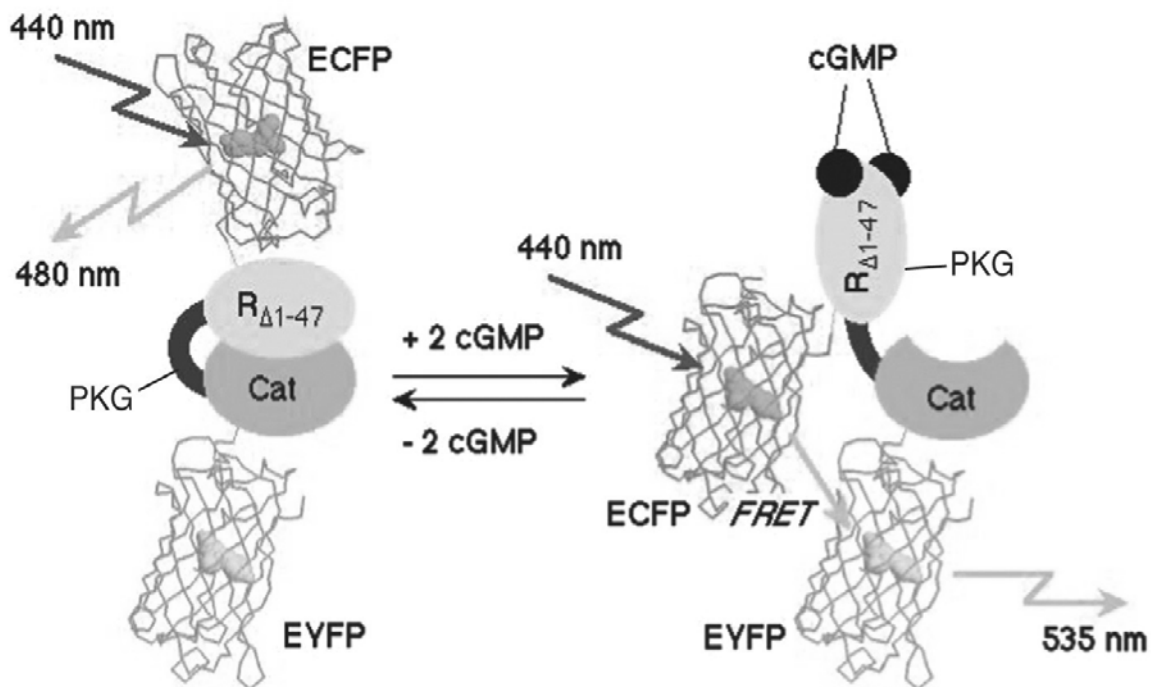
オワンクラゲやサンゴなどに由来する ¹⁾ 蛍光タンパク質 は ²⁾ 非侵襲性 の手法として、細胞内のタンパク質や ³⁾ 細胞内小器官、微小構造の観察に広く用いられている。この種の研究の殆どでは、研究対象のタンパク質のコード領域と蛍光タンパク質のコード領域とをつなぎ合わせた ⁴⁾ 組換え遺伝子 を作製する。作製した組換え遺伝子を細胞に導入すると、細胞は目的のタンパク質と蛍光タンパク質が融合したキメラタンパク質を合成する。⁵⁾ 共焦点蛍光顕微鏡 を用いればこのキメラタンパク質の細胞内における位置や動的活動を鮮明に解明できる。

(1-1) 上記の文章中の下線部の用語を英語で記入しなさい。

- 1) 蛍光タンパク質、2) 非侵襲性、3) 細胞内小器官、4) 組換え遺伝子
5) 共焦点蛍光顕微鏡

(1-2) 上述以外に、細胞や組織観察を行う上で蛍光タンパク質を利用する利点を3つ挙げなさい。

(2) 図は増強型シアン蛍光タンパク質 (ECFP) と増強型黄色蛍光タンパク質 (EYFP) の間に生じる蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した cGMP センサーの構造模式図である。以下の問いに答えなさい。



Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Son:) より引用

- (2-1) 蛍光共鳴エネルギー移動(*FRET*)とは何か？その効率に影響を及ぼす要因を交えて説明しなさい。
- (2-2) 図のキメラタンパク質が *cGMP* のセンサーとして働く仕組みを述べなさい。尚、*PKG* は *cGMP* 結合プロテインキナーゼ、*Cat* と *R_{Δ1-47}* はそれぞれ *PKG* 内の触媒ドメインと一部分を欠失させた制御ドメインを示す。
- (2-3) 細胞内から発せられる蛍光シグナルを可視化するために、通常の蛍光顕微鏡に比べて鮮明な画像が得られる共焦点蛍光顕微鏡がよく用いられる。共焦点蛍光顕微鏡の光路図および光学部品を図示し、鮮明な画像が得られる理由を説明しなさい。