

平成 28 年度 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

ただし、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しなさい。

ただし、生物化学工学の問題 1 では 2 枚の解答用紙を使用しなさい。

選択した科目で余った解答用紙にも受験番号を記載しなさい。

試験終了時に回収します。

受験番号	
------	--

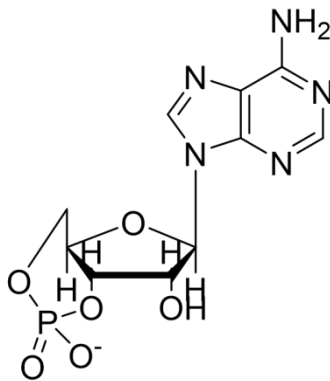
基礎生物化学

問題 1. (配点率 25/100)

(1) 次の化合物の構造式を示しなさい。

- 1) 3'-シチジル酸
- 2) グアノシン三リン酸

(2) 次の構造の名前と生体内における機能について示しなさい。



(3) DNA 塩基配列決定法として知られるジデオキシ法について、以下の問いに答えなさい。

- 1) ジデオキシ法の原理を説明しなさい。
- 2) 過剰量の ddNTP を反応液に入れた場合、どのような結果になるかを示しなさい。
- 3) 過剰量のプライマーを反応液に入れた場合、どのような結果になるかを示しなさい。
- 4) 二本鎖 DNA の変性は、イオン強度の影響を受ける。イオン強度を下げた場合、どのような変化が観察されるかを示しなさい。

問題 2. (配点率 25/100)

- (1) 以下はタンパク質やペプチドの配列解析について述べたものである。空欄に当てはまる用語を記載しなさい。

タンパク質やペプチドはアミノ酸が (①) 結合した生体高分子である。あるペプチド X について、非還元条件下で SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動による分析を行ったところ 1 本のバンドとして検出されたが、(②) のような還元剤で処理したのちに SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分析すると 2 本のバンドが検出された。この結果からペプチド X は A 鎖と B 鎖の 2 本のペプチドからなり、2 本のペプチド鎖中の (③) 残基はジスルフィド結合していることが分かった。ペプチド X の A 鎖と B 鎖についてエドマン分解を利用して配列を決定したところ、それぞれについて以下の配列が得られた。

1 5 10
A 鎖 AVCKTGCKNCYL

1 5 10
B 鎖 YKCYRHSKCD

この配列からペプチド X には、中性付近で正電荷を持つアミノ酸であるヒスチジン、(④) および (⑤) が含まれていることが分かった。

- (2) ペプチド X の A 鎖と B 鎖の配列それぞれについて、アミノ酸残基の 3 文字表記を用いて記述しなさい。
- (3) アミノ酸配列決定の際に用いるエドマン分解の反応機構を記載しなさい。ただし、N 末端のアミノ酸残基の側鎖は R₁、N 末端から 2 番目および 3 番目のアミノ酸残基の側鎖はそれぞれ R₂ および R₃ とする。
- (4) ペプチド X を還元せずにトリプシンで処理すると以下のアミノ酸組成を持つ 5 本のペプチド断片が得られた。ペプチド X の配列中のジスルフィド結合の位置を記載しなさい。

(A, 2×C, D, K, V)

(2×C, G, R, T, Y)

(C, L, N, Y)

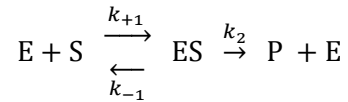
(H, K, S)

(K, Y)

問題 3. (配点率 25/100)

以下の問いに答えなさい。文章中の () は適切な式や語句で埋めなさい。

酵素による触媒反応は、一般に次のように表されることが多い。



- (1) E, S, ES, P の記号がそれぞれ意味するところを答えなさい。
- (2) 上の式を速度論的に解析して、ミカエリス・メンテン式の導出を行う。この際、記号“0”は反応の初めを意味するものとする、通常は $[E]_0$ と $[S]_0$ の濃度の大小関係は(ア) \gg (イ)である。また、 $k_{+1} \gg k_2$ 、 $k_{-1} \gg k_2$ である。ES濃度はほぼ一定の値を取るとみなし得る時間が長く続く(ウ)状態にあるとする。この状態を微分式で表すと(エ) $= 0$ と書ける。いくつかの素反応からなる複合反応の全体としての反応速度は、一番遅い過程、つまり(オ)段階によって決められるので、全ての素反応が一次反応であると仮定すれば、反応速度 v は(カ)のように与えられる。その後、いくつかの考察により、最終的にはミカエリス・メンテン式(式1)が得られる。

$$v = \frac{d[P]}{dt} = \text{(カ)} = \dots = \frac{V_{\max}[S]_0}{K_m + [S]_0} \quad \text{(式 1)}$$

ここで、 V_{\max} は酵素反応の最大速度を表し、その値は酵素が基質で飽和した時の反応速度と一致する。

- (3) ミカエリス定数は $K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{+1}}$ で与えられるが、この定数の持つ実験的意味を理論的に述べなさい。
- (4) ある酵素反応は、 K_m が1mM、 V_{\max} が10 nM \cdot s $^{-1}$ である。この酵素反応において基質濃度が (a) 0.5 mM、(b) 1.25 mM、(c) 10 mM の時の反応速度を求めなさい。

問題 4. (配点率 25/100)

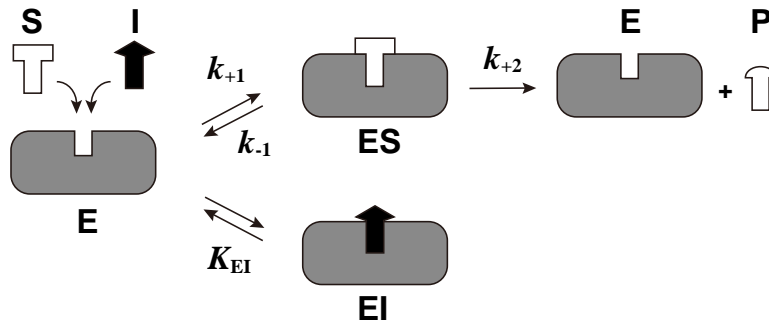
生体内では酵素が種々の有機化学反応を触媒する。下記の(1)~(3)の生体関連反応の反応機構を化学構造式を用いて説明しなさい。

- (1) 酸性条件下、酢酸エチルが加水分解され酢酸とエタノールが生成する反応。
- (2) 二分子の酢酸エチルからクライゼン縮合反応により一分子のアセト酢酸エチルが生成する反応。
- (3) アセト酢酸が脱炭酸し、アセトンを生じる反応。

生物化学工学

問題 1. (配点率 33/100)

酵素分子中の特定の部位に可逆的に結合して、反応速度を低下させる物質を可逆的阻害剤と呼ぶ。可逆的阻害剤による阻害形式は、拮抗型、不拮抗型（あるいは反拮抗型）、非拮抗型、混合型の4つに大別される。このうち、拮抗型は下図に示すように、阻害剤と基質が結合する酵素分子中の部位が同じであり、両者が結合部位を奪い合う。



ここで、 k_{+1} 、 k_{-1} 、 k_{+2} は矢印で示した反応の速度定数を表す。 K_{EI} はEIの解離定数であり、次式で与えられる。

$$K_{EI} = \frac{[E][I]}{[EI]} \quad (\text{式 1})$$

- (1) E、S、I、P、ES、EIはそれぞれ何を表すか示せ。
- (2) 阻害剤が存在しない場合のミカエリス・メンテン式(式2)を導出せよ。

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad (\text{式 2})$$

- (3) 拮抗阻害剤が存在するときのミカエリス・メンテン式は(式3)のように与えられる。(式3)を導出せよ。

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_{EI}}\right) + [S]} \quad (\text{式 3})$$

- (4) 阻害剤の非存在下における酵素反応速度の測定値から、Lineweaver-Burkプロットにより K_m 、 V_{\max} を求める方法を(式2)に基づき説明せよ。説明には同プロットの概略図も記すこと。

また、同じ酵素反応の速度を拮抗阻害剤の存在下で測定し、Lineweaver-Burkプロットを行った場合に、プロット図がどのように変化するかを、記した概略図に点線で追記して示すとともに、そのような変化がみられる理由を(式3)に基づき説明せよ。

問題 2. (配点率 33/100)

近年、有用物質生産において、連続バイオプロセスがその生産性の高さから改めて注目され、特に、細胞循環を用いた連続培養（灌流培養）では、実用化の事例も報告されている。そこで、連続培養に関する下記の問いに答えよ。

- (1) 細胞循環を用いない連続培養を産業上に応用する際の問題点を3つ挙げ、それぞれ50字程度で説明せよ。
- (2) 下図に示すような細胞循環を用いた連続培養において、定常状態（ケモスタット）を保持して運転を行っている場合を考える。

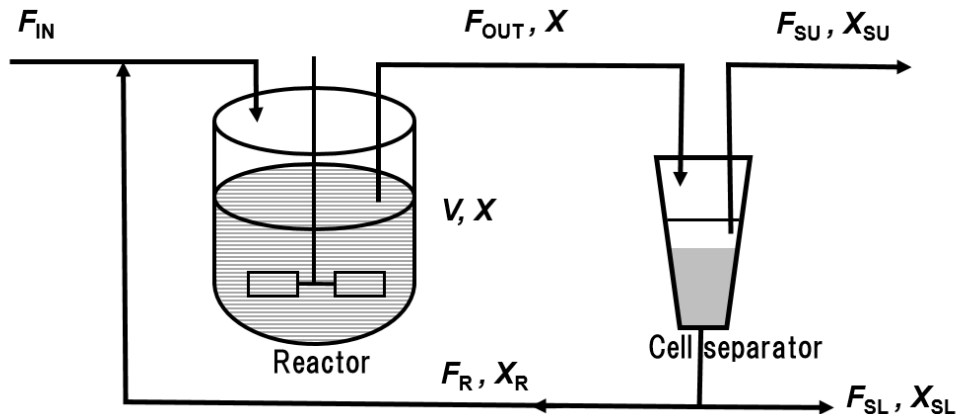


図 細胞循環を用いた連続培養（還流培養）

なお、培養槽内は完全混合であり、細胞分離槽では、細胞は増殖できず、分離槽における細胞の分離はすみやかに起こると仮定する。

F_{IN} : Feed rate ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$), F_{OUT} : Withdrawing rate ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$), F_{SU} : Effluent rate ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$),
 F_{SL} : Withdrawing rate from cell separator ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$), F_R : Recycle rate from cell separator ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$),
 X : Cell concentration in reactor (g-dry-cell m^{-3}), X_{SU} : Cell concentration in effluent (g-dry-cell m^{-3}),
 X_{SL} : Cell concentration in condensed medium (g-dry-cell m^{-3}),
 X_R : Cell concentration in recycle medium (g-dry-cell m^{-3}), V : Reactor volume (m^3)

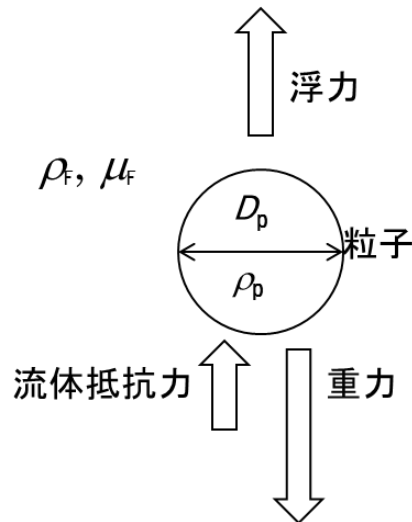
- 1) 培養槽における培養液量 V (m^3)、細胞濃度 X (g-dry-cell m^{-3})の収支式をそれぞれ示し、比増殖速度 μ (h^{-1})と希釈率 D (h^{-1}) ($=F_{IN}/V$)の関係を導出せよ。なお、記号は図に示されるものを適宜利用すること。
- 2) 細胞循環を用いない通常の連続培養においては、最大比増殖速度 μ_{max} より高い希釈率で操作すると、ウォッシュアウトと呼ばれる細胞が系外に流れ出す現象が発生する。細胞循環を用いる場合、ウォッシュアウトを生じず、比増殖速度最大値 μ_{max} より高い希釈率 D を保持して操作できる理由について1)で導出した式を用いて説明せよ。
- 3) 細胞循環を用いた連続培養の比増殖速度は、分離槽内で細胞が完全に分離できる場合、定常状態において、系への流入速度 F_{IN} ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$)ならびに循環速度 F_R ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$)、分離槽からの引き抜き速度 F_{SU} ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$)で制御することができる。そこで、2)で示した関係に基づき、分離槽内の物質収支を考えることにより、 μ と希釈率 D の関係を F_{IN} 、 F_R 、 F_{SU} を用いて示せ。

問題 3. (配点率 34/100)

遠心分離操作に関する以下の問いに答えよ。

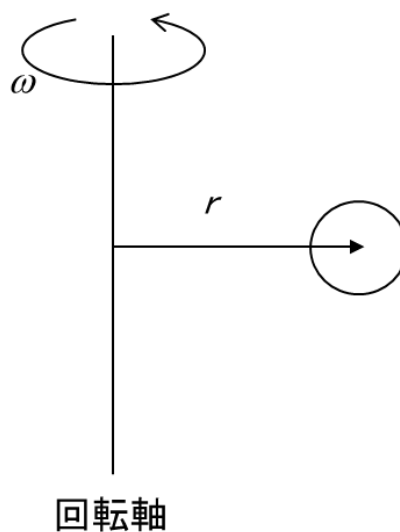
- (1) 直径 D_p (m)、密度 ρ_p (kg/m^3) の粒子 (剛体球) が密度 ρ_F (kg/m)、粘度 μ_F ($\text{kg/m}\cdot\text{s}$) の溶液中にあり、 g (m/s^2) の重力加速度を受けて沈降している。Stokes 領域 (レイノルズ数 $Re_p \leq 0.03$) において、速度 v (m/s) で沈降する粒子が流体から受ける抵抗力は $f = 3\pi D_p v \mu_F$ で表される。この粒子の終末速度 v_t (m/s) を表す (式 1) を D_p 、 ρ_p 、 ρ_F 、 μ_F 、 g を用いて示せ。ただし、式の導出過程は示さなくて良い。

$v_t =$ (式 1)



- (2) 上記の粒子が回転半径 r (m) の円周上を角速度 ω (rad/s) で回転している。Stokes 領域における粒子の終末速度 v_c (m/s) を表す (式 2) を D_p 、 ρ_p 、 ρ_F 、 μ_F 、 r 、 ω を用いて示せ。ただし、式の導出過程は示さなくて良い。

$v_c = dr/dt =$ (式 2)



(次ページへ続く)

