

## 基礎生物化学

### 問題 1. (配点率 33/100)

$\alpha$ -アミノ酸は、 $\alpha$ 炭素にアミノ基とカルボキシル基と水素と側鎖 (R 基) が結合した構造を有し、側鎖 (R 基) の違いによりそれぞれ異なるアミノ酸となる。次の(1)-(11)に示す特徴を有する  $\alpha$ -アミノ酸の名称と化学構造式を示せ。

- (1) 側鎖としてフェニル基を有する。
- (2) 側鎖としてイソプロピル基を有する。
- (3) チオエーテル型の側鎖をもつ。
- (4) 環状ピロリジン側鎖をもつ。
- (5) 側鎖にインドール基がある。
- (6) 側鎖にフェノール性ヒドロキシル基がある。
- (7) 側鎖にアミド基をもち、アミノ酸全体の炭素数が 4 である。
- (8) 側鎖にカルボキシル基をもち、アミノ酸全体の炭素数が 5 である。
- (9) ブチルアンモニウム側鎖をもつ。
- (10) プロピルアンモニウム側鎖をもつ。
- (11) 側鎖にイミダゾリウムをもつ。

問題 2. (配点率 33/100)

(1) 以下に示す化合物の構造を示しなさい.

1) 環状 AMP

2) グアニン

3) デオキシリボース

(2) アデニン誘導体のヒポキサンチンは、アデニンと塩基対を形成する. この塩基対の構造を示しなさい.

(3) PCR (polymerase chain reaction)は DNA 増幅法の一つである. 以下の問いに答えなさい.

1) PCR 法の原理を説明しなさい.

2) 通常の PCR 法では, 熱安定性 DNA ポリメラーゼが使われる. その理由を説明しなさい.

3) PCR 法に基づいた部位特異的変異導入法について, 説明しなさい.

(4) 二本鎖 DNA は, 強アルカリ水溶液中では分離しやすい. その理由を説明しなさい.

問題3. (配点率 34/100)

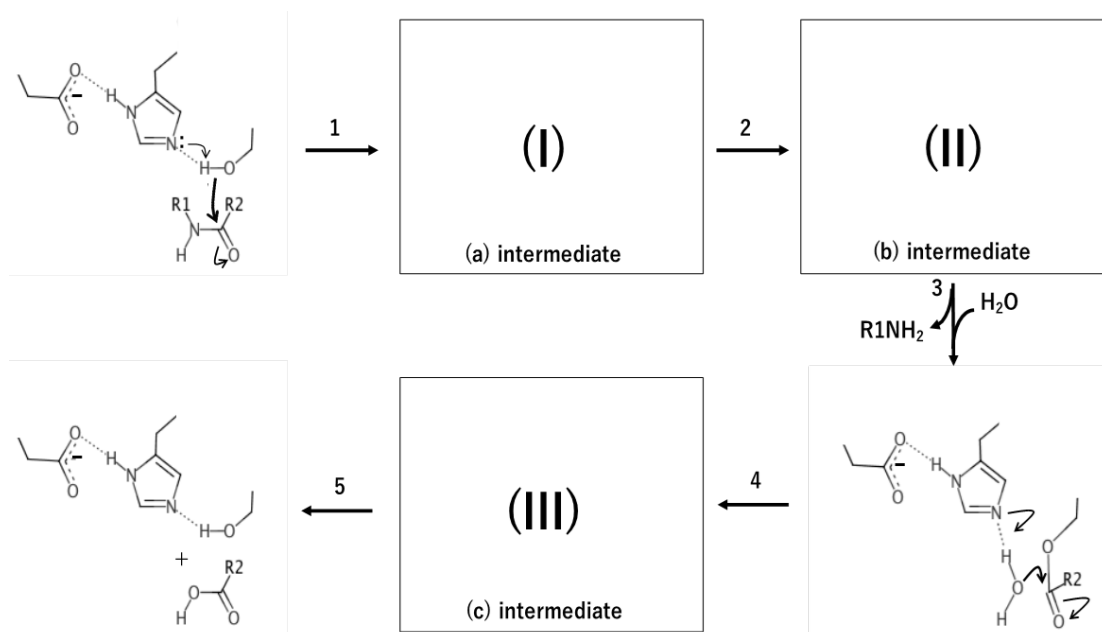
(1) 以下は、広く存在するタンパク質分解酵素であるセリンプロテアーゼに関する説明である。

よく研究されているセリンプロテアーゼとして ( A ) やキモトリプシンが知られている。キモトリプシンの触媒作用に重要な基は化学ラベル法で確認された。キモトリプシンの活性部位に ( B ) 残基があることはジイソプロピルホスホフルオリデート (DIPF) を反応させると不可逆的に不活性化されることにより示された。第二の触媒活性基である ( C ) 残基はアフィニティラベルにより示された。キモトリプシンはトシル-L-フェニルアラニクロロメチルケトン (TPCK) と特異的に反応する。

- 1) 文章中の(A)-(C)に当てはまる適切な言葉を記載せよ。
- 2) キモトリプシン中の ( B ) 残基とジイソプロピルホスホフルオリデート (DIPF) との反応式を記述せよ。
- 3) キモトリプシン中の ( C ) 残基とトシル-L-フェニルアラニクロロメチルケトン (TPCK) との反応式を記述せよ。
- 4) セリンプロテアーゼでは上記文章(1)に記載の ( B ) 残基と ( C ) 残基に加え、( D ) 残基が活性部位を構成する。これら 3 個の不変残基は水素結合して一定の配置をとり、( E ) とよばれる。D および E に入る適切な名前を答えよ。

(2) 以下の図はセリンプロテアーゼの触媒反応機構である。

- 1) 中間体の名称(a), (b), (c)を日本語または英語で記載の上、(I), (II), (III)における反応機構を図示せよ。



# 生物化学工学

## 問題 1. (配点率 33/100)

グルコースを単一炭素源とした合成培地による通気攪拌培養槽を用いた微生物  $Z$  の好気条件下における連続培養を行った。以下の問いに答えよ。なお、計算の過程および単位も示すこと。図中に示されてない記号を用いる場合には、定義すること。

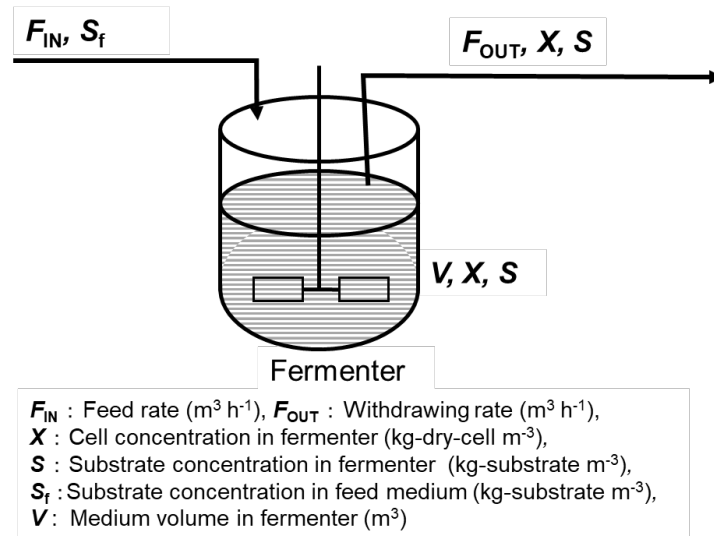


Figure Continuous cultivation

- (1) 上図に示される連続培養槽における菌体量および基質量の速度式(物質収支式)を示せ。
- (2) 微生物  $Z$  はグルコースを制限基質として培養を行った場合、比増殖速度の最大値を  $\mu_m$  ( $h^{-1}$ )、飽和定数を  $K_s$  ( $kg\text{-substrate } m^{-3}$ )とする Monod の式に従って増殖することが知られている。今、グルコースを制限基質として連続培養を行い、定常状態を実現した。定常状態における培養液単位液量あたりの菌体生産速度  $V_X$  ( $kg\text{-dry-cell } h^{-1} m^{-3}$ )は、 $F_{IN}$ および  $S_f$ で支配される。これを表現する式を示せ。なお、グルコースは菌体増殖のみに利用されたと仮定し、グルコースあたりの菌体収率を  $Y$  ( $kg\text{-dry-cell } kg\text{-substrate}^{-1}$ )とする。
- (3) 培養液単位液量あたりの菌体生産速度  $V_X$  がゼロになる条件を求めよ。この状態を何と呼ぶか。このような条件にならないように連続培養を操作するにはどうしたらよいか説明せよ。

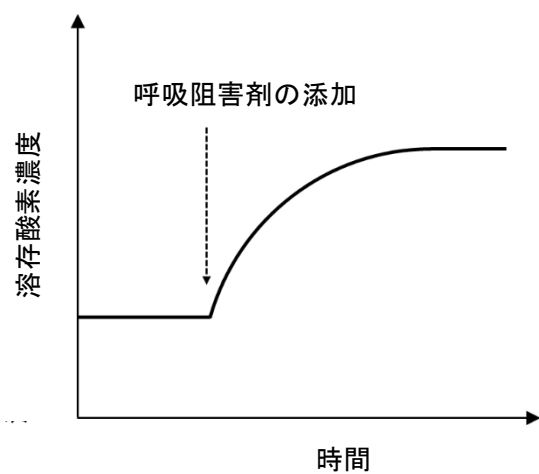
問題 2. (配点率 33/100)

ある好気性微生物を空気供給を伴うバイオリアクター内で培養する。以下の問いに答えよ。解答には下記の記号を適宜用いること。

- $C^*$ : 飽和溶存酸素濃度
- $C$ : 培養液中の溶存酸素濃度
- $X$ : 培養液中の微生物の細胞濃度
- $Q_{O_2}$ : 単位細胞量あたりの酸素消費速度
- $k_L a$ : 酸素移動容量係数

(1) 培養槽中の溶存酸素 (DO) 濃度の変化速度 ( $dC/dt$ ) を表す式を記せ。

(2) 培養中、DO 濃度は一定状態に保たれていた。ここに呼吸阻害剤を加えると図のように DO 濃度の上昇が見られ、やがて再び一定状態となった。このデータより  $k_L a$  を求める方法を(1)で求めた式を用いて説明せよ。呼吸阻害剤の添加により微生物の呼吸は完全に停止するものとする。



(3) 測定の結果、 $k_L a$  は  $30 \text{ h}^{-1}$  と求められた。呼吸阻害剤を添加する直前の微生物の細胞濃度は  $3.0 \text{ g-dry-cells L}^{-1}$ 、DO 濃度は  $0.12 \text{ mmol L}^{-1}$  であった。また阻害剤添加後、再度 DO が一定状態に達したときの DO 濃度は  $0.20 \text{ mmol L}^{-1}$  であった。同じ培養条件下で阻害剤の添加を行わずにこの微生物を  $6.0 \text{ g-dry-cells L}^{-1}$  まで培養したとき、DO 濃度はいくらずで一定となるか求めよ。解答には計算の過程も示すこと。

問題 3. (配点率 34/100)

ろ過は、菌体などの微粒子が混ざっている懸濁液を、フィルターに流入させ固液分離する操作である。ろ過抵抗を固形分であるケーキによるろ過抵抗  $R_c$  ( $m^{-1}$ )とフィルターによるろ過抵抗  $R_m$  ( $m^{-1}$ )の和とすると、ろ液の体積透過流束  $J$  ( $m^3 m^{-2} s^{-1}$ )は、次式で定義される。

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

ここで、 $A$  ( $m^2$ )はろ過面積、 $V$  ( $m^3$ )はろ液量、 $t$  (s)はろ過時間、 $\Delta P$  (Pa)はろ材に作用する圧力差、 $\mu$  (Pa s)はろ液の粘度である。

フィルターの抵抗はろ過操作中一定と考えられるが、ろ過の進行とともにケーキの厚さが増加することにより、ろ過抵抗が増し、透過流束が低下する。 $R_c$  は堆積したケーキ質量に比例するので、次式で表される。

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

ここで、 $\alpha_r$  ( $m kg^{-1}$ )はケーキのろ過比抵抗、 $\rho_0$  ( $kg m^{-3}$ )はケーキの乾燥質量である。

式(1), (2)より、ろ過方程式は次式となる。

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \left[ \alpha_r \rho_0 \left( \frac{V}{A} \right) + R_m \right]} \quad (3)$$

ろ過で  $\Delta P$  が一定 (定圧ろ過) の場合は、 $\alpha_r$  が時間とともに変化せず、 $\rho_0$  も一定とみなせるので、式を積分し、次式のように Ruth の定圧ろ過式が得られる。

$$V^2 + 2VV_0 = Kt \quad (4)$$

ここで、 $K = \frac{2A^2 \Delta P}{\alpha_r \rho_0 \mu}$  , および  $V_0 = \frac{R_m A}{\alpha_r \rho_0}$  とする。

次のページに続く

ろ過操作に関する以下の問いに答えよ。解答には計算の過程も示すこと。

- (1) ロートを使用して細胞懸濁液をろ過し、ろ過時間  $t$  に対する単位ろ過面積あたりのろ過液量  $V$  の変化の測定を行った。式(4)を用い、図解により  $K$  を求める方法を示しなさい。また、ろ過速度を支配する因子を挙げ、ろ過速度を高く維持するための方法を、解答用紙 3 行以内で考察せよ。
- (2) 懸濁液をフィルターで定圧ろ過（圧力差  $5.00 \times 10^4$  Pa）すると、 $50.0 \text{ dm}^3$  のろ液が 30.0 分で回収された。 $1.00 \times 10^5$  Pa での定圧ろ過で 30.0 分の間に回収できるろ液量を求めよ。ただし、ろ材抵抗は無視できるとする。
- (3) 直径 5.00 cm のロートを使用して懸濁液のろ過を行ったところ、 $1.00 \times 10^{-4} \text{ m}^3$  のろ液を得るのに 24.0 分要した。ケーキの圧縮性はないものと仮定する。ろ過面積が  $10.0 \text{ m}^2$  の同じフィルターを用いて、 $3.00 \text{ m}^3$  のろ液を得るのに要する時間を求めよ。ただし、ろ液の粘度は  $\mu = 1.02 \times 10^{-3} \text{ Pa s}$ 、不溶性物質の密度は  $\rho_0 = 4.02 \times 10^3 \text{ kg m}^{-3}$  とする。また、差圧は、 $3.00 \times 10^5 \text{ Pa}$  で共通とする。