

平成 31 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。

問題用紙ならびに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	
------	--

生物化学

問題 1. (配点率 33/100)

(1) 次の化合物について、以下の問いに答えよ。

- 1) ランチオニンは、 β 炭素でチオエーテル結合した 2 つのアラニン残基から構成される非標準アミノ酸である。ランチオニンの構造式を示せ。
- 2) リシンとアラニンがイソペプチド結合を形成したときの構造式を示せ。
- 3) ジペプチド化合物であるカルノシン (β -アラニルヒスチジン) の構造式を示せ。

(2) D-グルタミン酸と D-システインの構造式をフィッシャー投影式で示し、不斉炭素に*印をつけよ。また、これら 2 つのアミノ酸の絶対立体配置を *RS* 表示で示せ。

(3) 次の観測データに基づき、このタンパク質のサブユニット構造を示せ。

サイズ排除クロマトグラフィー (ゲル濾過クロマトグラフィー) により観測された分子質量は 200 kDa、ジチオスレイトール (DTT) 処理を伴う SDS-PAGE 解析により観測された分子質量は 30 kDa と 70 kDa。ジチオスレイトール (DTT) 処理を伴わない SDS-PAGE 解析により観測された分子質量は 100 kDa。

(4) ブロモシアン (BrCN) は、ペプチドに含まれるメチオニン残基の C 末端側を切断する化学試薬である。その反応機構を化学構造式を用いて示せ。

問題 2. (配点率 34/100)

タンパク質の一次構造の解析方法に関する以下の設問(1)~(5)に解答せよ.

- (1) N末端のアミノ酸を決定する際に最もよく使われる分解方法の名称を答えよ.
- (2) (1)の分解方法により N末端アミノ酸はフェニルチオヒダントイン (PTH) 誘導体として得られる. N末端がアラニンであった場合に得られる PTH アミノ酸の構造式をかけ.
- (3) 消化酵素トリプシンは特異性が高く, 正電荷アミノ酸である (①) や (②) の C末端側でポリペプチド鎖を切断する. ただし C末端側のアミノ酸が (③) の時は切断できない. ①, ②, ③に該当するアミノ酸の名称と構造式をそれぞれ記載せよ.
- (4) タンパク質の配列決定では, トリプシンによって断片化されたペプチドをクロマトグラフィー等によって分離後, イオン化させ, 質量分析を行う. この際, ペプチドのイオン化は, 高電圧をかけた毛細管からペプチドの溶液を噴出させることで実現できる. このイオン化法の名称を略さずに記載せよ.
- (5) (4)の方法によりペプチドをイオン化すると, プロトンが複数付加した状態でイオン化され, 質量分析を行うと質量電荷比 (m/z) が異なる複数のピークが観測される. クロマトグラフィーにより分離されたある特定のペプチドの質量分析を行ったところ, m/z が 505 と 757 である 2本のピークのみ観測された. 観測されたペプチドの質量 m およびそれぞれのピークの電荷数 z を答えよ.

問題 3. (配点率 33/100)

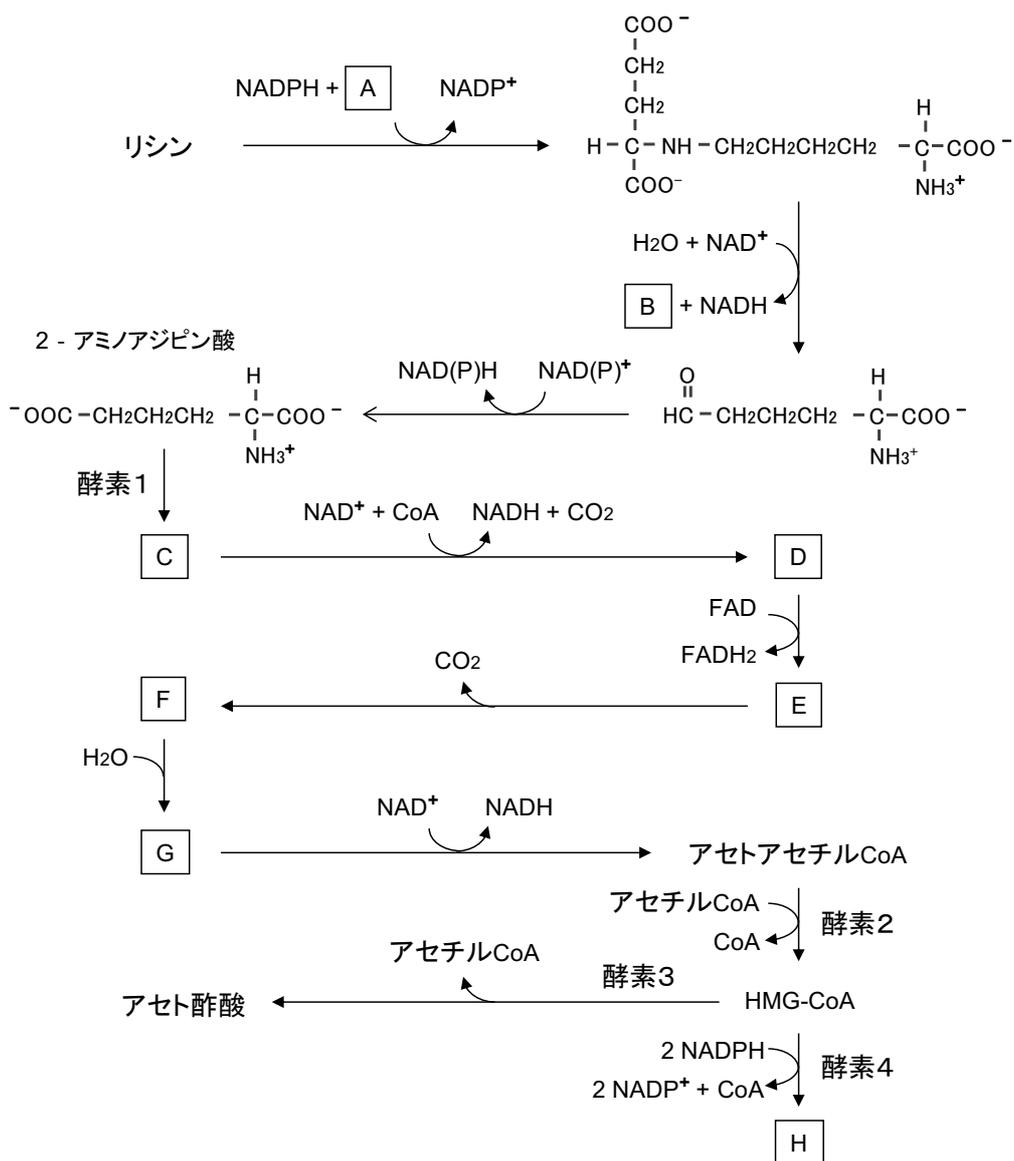
生体における酵素反応の中で高分子分解反応は最も重要な反応のひとつである。一般酸塩基触媒反応機構により生体高分子の加水分解反応を触媒する2つの酵素について、以下の設問に答えよ。

- (1) リボヌクレアーゼ A は、一本鎖 RNA を切断する酵素であり、活性中心において2つの異なるヒスチジン残基が関与し、RNA のリボース部分の2位の水酸基の隣接基関与を利用して、反応を触媒する。本酵素反応機構を化学構造式を用いて示せ。
- (2) リゾチームは、強固なグリコシド結合を加水分解するために、オキシニウムイオン型反応遷移状態を経て反応を進行させる。本酵素反応機構を化学構造式を用いて示せ。

微生物学

問題 1. (配点率 30/100)

次ページにリシンの分解に関連する反応経路を図に示している. 下記の設問に答えよ.



- 物質 A, B の名前を示せ.
- 2-アミノアジピン酸を物質 C へと変換する酵素 1 はトランスアミナーゼである. 物質 C の構造を示せ.

次のページに続く

- (3) 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA(HMG-CoA)の構造を示せ。ただし, CoAの構造を詳細に示さずに, 「CoA」と記しなさい。
- (4) 酵素 2, 酵素 3, 酵素 4 は, 下記①-③の酵素のいずれかである。
①HMG-CoA シンターゼ,
②HMG-CoA リアーゼ,
③HMG-CoA レダクターゼ
どの組合せが, 酵素 2 - 酵素 3 - 酵素 4 に適しているか。下記の(a)-(f)から選べ。
(a) ①-②-③ (b) ①-③-② (c) ②-①-③
(d) ②-③-① (e) ③-①-② (f) ③-②-①
- (5) 酵素 4 に関連する下記の問に答えよ。
- 1) 酵素 4 の反応により生成する物質 H の名前を示せ。
 - 2) 物質 H は, 清酒などにもわずかに存在し, 清酒の変敗を引起す微生物の生育に不可欠である。このような変敗に関わる微生物は, どのような名称で呼ばれているか? 変敗菌 (あるいは腐敗菌) 以外で, その名称を記せ。
 - 3) 高濃度のコレステロールが循環する高コレステロール血症は, 酵素 4 の阻害剤で治療する。この阻害剤はどのように総称されているか, その名称を記せ。

問題 2. (配点率 35/100)

以下の質問に答えよ.

- (1) *Escherichia coli* で利用されるプラスミドベクターについて, 制限酵素認識部位以外で必須となる要件を 2 つ記せ.
- (2) β -ガラクトシダーゼを利用して組換え DNA 分子を持った *E. coli* かどうかをコロニーの色 (青色か白色) で判定する方法の原理について, 4 行以内で説明せよ.
- (3) 線状 DNA を制限酵素 HindIII で切断すると 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb の断片が得られた. 同様に制限酵素 EcoRV で切断すると 5.7 kb, 2.4 kb, 1.9 kb の断片が得られた. 両酵素で同時に切断すると 4 kb, 2 kb, 1.7 kb, 1.3 kb, 0.6 kb, 0.4 kb の断片が得られた. これらの情報から得られる線状 DNA の制限地図を各制限断片の大きさと共に描け.
- (4) 以下の DNA 2 本鎖配列から最も長いタンパク質をコードする遺伝子配列 (開始コドンから終止コドンまで) のみを PCR 法で増幅させるための 2 つの 10 塩基のプライマーを設計し, 5' から 3' の向きでそれぞれの配列を記せ. ただし, 遺伝子はイントロンを含んでいない.

5' - GAAAAAGAAGTACAATGCCAGAAGATATAATTGCTCCAATGATAATCCGTGACAGTTGTGACC

3' - CTTTTTCTTCATGTTACGGTCTTCTATATTAACGAGGTTACTATTAGGCACTGTCAACACTGG

GACAAGTGCACGTACAAGGATGAGGGATTTGCC -3'

CTGTTACAGTGCATGTTCCCTACTCCCTAACGG -5'

問題 3. (配点率 35/100)

以下の問いに答えよ.

- (1) 転移因子に関する下記の文章の(a)~(e)にあてはまる最も適切な語句を答えよ.
転移因子は RNA 中間体を介して転移する (a) と RNA 中間体を介さずに転移する (b) の2つのタイプに分けられる. (a) の1つである酵母の *Ty1* は一度 DNA から RNA に転写された後, 自身がコードする (c) の働きで cDNA になり, ゲノム中の別の位置に再び組み込まれる. 一方, (b) の1つであるショウジョウバエの *P* 因子は自身がコードする (d) が (e) を認識して自身を切り出し, RNA 中間体を介さずに別の場所に転移する.
- (2) 転移因子は転移以外の様式で「染色体の再編成」の自然発生を誘発する. また, 転移因子の転移によって「遺伝子の配置換え」が生じることがある. 転移因子が要因となって生じる「染色体の再編成」および「遺伝子の配置換え」の機構について, それぞれ図を用いつつ4行程度の文章で答えよ.
- (3) 非病原性大腸菌 K12 株と病原性大腸菌 O157 株の比較ゲノム解析から, O157 株にみられる病原性に関わる遺伝子が, 遺伝子の水平伝達によってもたらされたとする仮説が支持されている. どのような解析結果からそのような仮説が支持されているのかを2行程度で答えよ. また, その水平伝達機構の名称を答えよ.

分子細胞生物学

問題 1. (配点率 40/100)

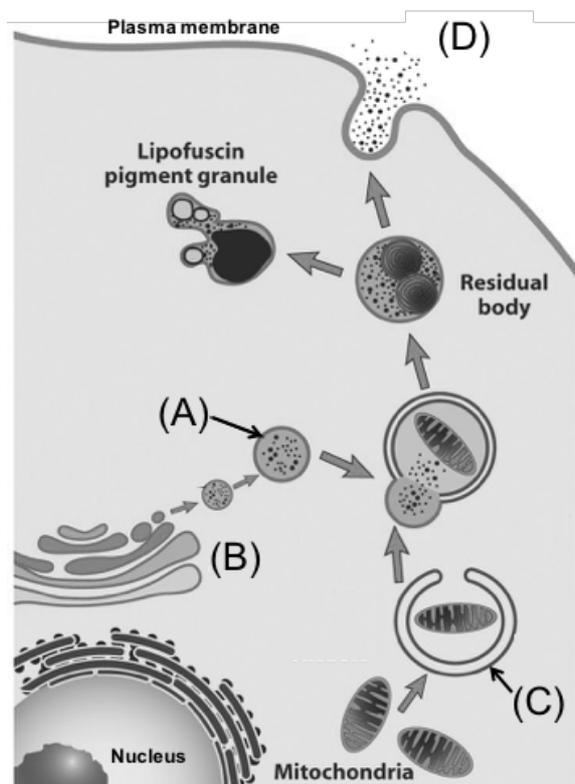
(1) ミトコンドリアについて、以下の問いに答えなさい。

- 1) 細胞内においてミトコンドリアが果たしている機能を3つ答えなさい。
- 2) ミトコンドリアは、嫌気性の宿主の細胞質に棲みついた好気性原核細胞を起源とすると考えられている。ミトコンドリアのどのような性質がこの説を支持するのかを100字以内で論じなさい。

(2) 小胞体はSERとRERと略される2つに大別される。

- 1) SER, RERをそれぞれ日本語もしくは英語で略さずに答えなさい。
- 2) 細胞内におけるSERの働きを3つ、合わせて100字以内で答えなさい。
- 3) 細胞内におけるRERの働きを3つ、合わせて100字以内で答えなさい。

(3) 以下の図を見て、下記の問いに答えなさい。



カープ分子細胞生物学第7版から改変

次のページに続く

- 1) (A)～(D)に適切な用語を記入しなさい。略語は不可とする。ただし、(D)は現象の名称である。
- 2) 図のような(A)による細胞内小器官の代謝回転過程は、何と呼ばれているか。
- 3) (A)を生成する以外の細胞内における(B)の働きについて、100字以内で論じなさい。

問題 2. (配点率 30/100)

遺伝子とその発現について、以下の問いに答えなさい。

- (1) 遺伝子が酵素の産生を指示しているという考えは 1940 年代にカリフォルニア工科大学の **Beadle** と **Tatum** が行ったアカパンカビを用いた実験で再認識され、「一遺伝子一酵素」説が提出された。この説に至った実験とその結果について、200 字程度で説明しなさい。
- (2) 「一遺伝子一酵素」説は非常に重要な概念であったが、その後、酵素がしばしば複数のポリペプチド鎖から形成され、それぞれが別の遺伝子によってコードされていることがわかると「一遺伝子一ポリペプチド鎖」説に変更された。現在ではさらにこの説も修正が必要となっている。「一遺伝子一ポリペプチド鎖」説の修正が必要になった重要な分子生物学上の発見について 100 字程度で述べなさい。
- (3) 真核生物の遺伝子発現はさまざまなレベルで調節されており、クロマチンのレベルでも調節がなされている。
 - 1) ユー（真正）クロマチンとヘテロクロマチンの違いについて述べなさい。
 - 2) ヘテロクロマチンの形成機構として考えられているモデルについて説明しなさい。
 - 3) ヘテロクロマチンが形成された結果として個体レベルで観察される例を示しなさい。

問題 3. (配点率 30/100)

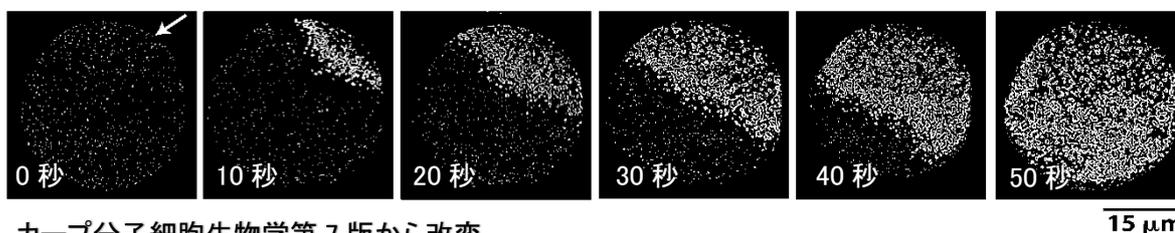
以下の文章を読み、問いに答えよ。

- (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、(a)Gタンパク質共役型受容体、(b)受容体型チロシンキナーゼ、および(c)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(d)本の膜貫通ヘリックスを有し、細胞内ドメインにおいて、ヘテロ(e)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(f)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(g)し、それにより基質タンパク質の(h)、(i)、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、特定イオンの細胞膜透過性を変化させる。

1) 上記の文章中の下線部(a)から(c)の用語を英語で略さずに記入せよ。

2) (d)から(i)のそれぞれにあてはまる語句を1つ答えよ。

- (2) 図はヒトの未受精卵に Ca^{2+} 感受性の蛍光指示薬を注入してから受精させ、10秒間隔で Ca^{2+} の細胞質での濃度変化を蛍光顕微鏡下で捉えたタイムラプス画像である（矢印は精子侵入点、白色は遊離 Ca^{2+} 濃度が高いことを示す）。



カープ分子細胞生物学第7版から改変

15 μm

- 1) Ca^{2+} 感受性の蛍光指示薬を用い、その蛍光シグナルを蛍光顕微鏡とコンピュータ画像処理技術により観察することで、生細胞中の異なる区画の遊離 Ca^{2+} 濃度を経時的に測定できる。細胞内 Ca^{2+} の解析法として、このような可視化による方法の他に例えば細胞破碎液を用いる生化学的な方法がある。単一細胞レベルの可視化解析と生化学的解析によって得られる科学的情報の違いについて150字程度で考察せよ。
- 2) 細胞の一端から反対側に広がる Ca^{2+} の波状伝播はカルシウム誘発カルシウム放出と呼ばれる現象により生じる。この現象の分子メカニズムを説明せよ。
- 3) Ca^{2+} は細胞内2次メッセンジャーとして筋収縮、細胞分裂、分泌、受精、シナプス伝達、代謝、転写、細胞移動、細胞死など多様な生理現象に関与する。 Ca^{2+} 以外の細胞内2次メッセンジャーの例を1つ挙げ、それが関与する生理現象とその作用機作を説明せよ。