

令和 6 年度 工学研究科博士前期期課程入学試験問題（令和 6 年 4 月入学）

大阪大学大学院工学研究科生物工学専攻生物工学コース

生物工学 I

基礎生物化学，生物化学工学から 1 科目選択しなさい。

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。

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	
------	--

基礎生物化学

問題 1. (配点率 33/100)

アミノ酸に関する以下の設問に答えなさい.

- (1) 広義のアミノ酸とは、一分子の中にアミノ基とカルボキシ基を持つ化合物の総称である。しかしながら、生化学の分野では特にタンパク質を構成する 20 種類の「 α -アミノ酸」のことを「アミノ酸」と呼ぶことが多い。「 α -アミノ酸」の定義を述べよ。
- (2) タンパク質を構成する 20 種類の「 α -アミノ酸」の中で、厳密に言えば「 α -アミノ酸」と呼べないアミノ酸がひとつだけある。当該アミノ酸の名称を述べよ。また当該アミノ酸がなぜ厳密には「 α -アミノ酸」とは言えないのか理由を述べよ。
- (3) L-グルタミン酸の α -カルボキシ基が脱炭酸して生じた γ -アミノ酪酸 (GABA) は神経伝達物質として知られているが、当該分子は、広義のアミノ酸に属する。GABA の化学構造を示せ。
- (4) タンパク質を構成するアミノ酸は一つの例外を除いて光学活性体である。当該例外アミノ酸の名称と化学構造を示せ。
- (5) 生化学の分野では、アミノ酸のキラリティーを「Fischer による不斉中心表記法」を用いて表現する。当該表記法の原理を説明せよ。
- (6) L-アラニンの立体構造を Fischer の不斉中心表記法を用いて示せ。

問題 2. (配点率 33/100)

以下アミノ酸の各解離基の pK_a である。この数値に基づいて、アミノ酸、ペプチドおよびタンパク質の電荷に関する問いに答えよ。

解離基	pK_a	解離基	pK_a
α カルボキシ基	2.3	フェノール基	10.5
β カルボキシ基	3.9	スルフヒドリル基	8.4
γ カルボキシ基	4.1	イミダゾール基	6.0
α アミノ基	9.2	グアニジウム基	12.5
ε アミノ基	10.5		

- (1) アスパラギン酸, ヒスチジン, グルタミン酸の等電点を答えよ。
- (2) 下記の①～⑤のペプチドの $pH=3$, $pH=7$, $pH=11$ における電荷を計算し+1, 0, -1 のように答えよ。
- ① MTELDK ② MVVLPPL ③ MHRKPD ④ MSPDVVI ⑤ PLSMEDD
- (3) ある酵素のアミノ酸組成は下記の通りであり、この組成に基づいて等電点を計算したところ、10.1 となった。一方、その酵素の等電点を測定したところ、8.9 であった。なぜ、計算値と実験値が異なったのか、2 つ想定される要因を、それぞれ、50 文字程度で記載せよ。

アミノ酸	残基数	アミノ酸	残基数
アラニン	5	ロイシン	13
アルギニン	11	リシン	9
アスパラギン	9	メチオニン	6
アスパラギン酸	6	フェニルアラニン	4
システイン	4	プロリン	8
グルタミン	8	セリン	18
グルタミン酸	7	スレオニン	8
グリシン	7	トリプトファン	1
ヒスチジン	5	チロシン	5
イソロイシン	4	バリン	14

問題 3. (配点率 34/100)

次の文章を読み、以下の設問に答えよ。

ある精製された球状のタンパク質について、(A) β -メルカプトエタノールを用いた条件で SDS-PAGE を行ったところ、下図 1 のような結果を得た。次に (B) ゲル濾過クロマトグラフィー (サイズ排除クロマトグラフィー) により分析したところ、下図 2 のような結果が得られた。またこのタンパク質の酵素活性の pH による変化を測定したところ、下図 3 のような結果が得られた。

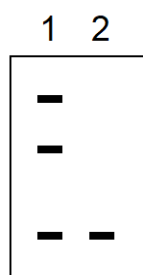


図 1

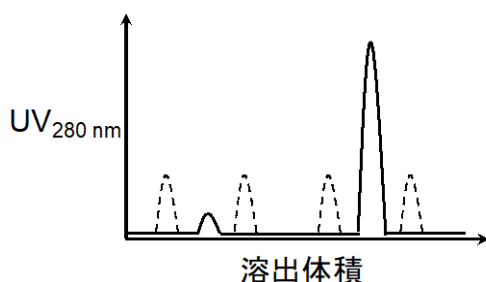


図 2

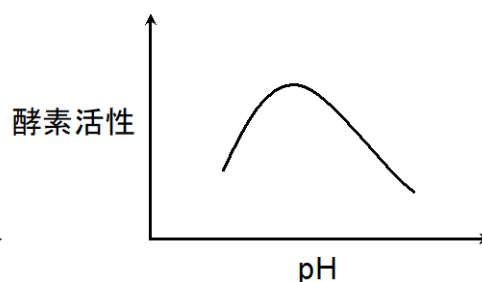


図 3

図 1 SDS-PAGE の実験結果。レーン 1 は標準分子量マーカで、30, 40, 50 kDa のものが含まれる。レーン 2 はタンパク質サンプル。泳動の方向は上から下であった。

図 2 ゲル濾過クロマトグラフィーの実験結果。破線は標準分子量マーカで、50, 75, 100, 150 kDa のものが含まれる。実線はタンパク質サンプル。

図 3 pH による酵素活性の変化の測定実験結果。

- (1) 下線部 A について、
 - (i) SDS-PAGE の原理を簡潔に述べよ。
 - (ii) タンパク質サンプルは陽極あるいは陰極のどちらに向かって流れるか。理由とともに記せ。
- (2) 下線部 B および図 2 について、
 - (i) ゲル濾過クロマトグラフィーの原理を簡潔に述べよ。
 - (ii) 溶出したタンパク質を紫外領域の吸収によって観察する理由を簡潔に述べよ。
- (3) この実験では、図 1 と図 2 の実験結果から得られる分子量の情報が異なる。
 - (i) その理由を簡潔に述べよ。
 - (ii) このタンパク質の四次構造について、考えられることを述べよ。
- (4) 図 3 について、酵素活性がこのような挙動を示す理由を述べよ。

生物化学工学

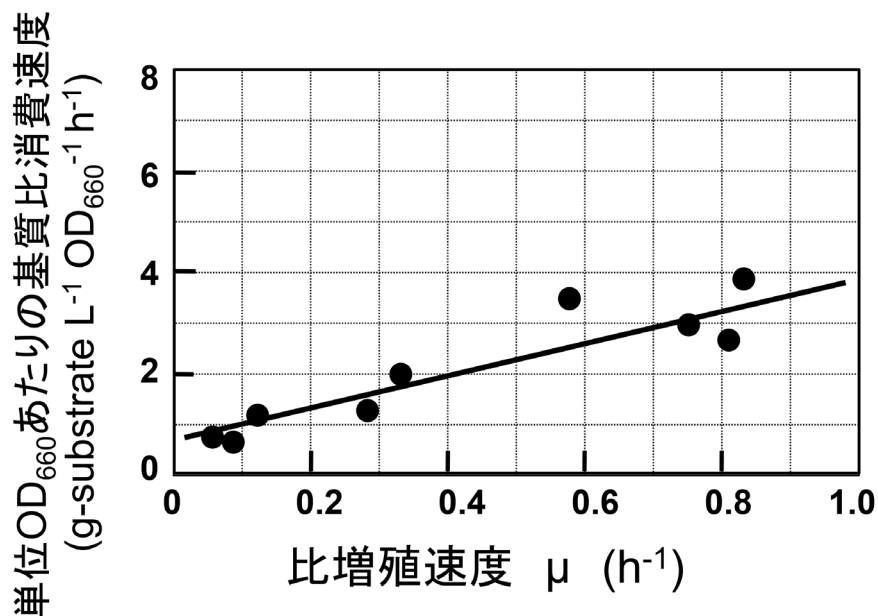
問題 1. (配点率 33/100)

100 L 容の培養槽に培地 60 L を仕込んで、ある微生物を培養する。培地はグルコースを単一炭素源とする合成培地であり、培養は好氣的に行われ、菌体以外に生産物は生産されないとする。増殖速度は $9.0 \text{ g-dry cell L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ に達し、このときの増殖収率は $0.50 \text{ g-dry cell g-substrate}^{-1}$ であったとする。グルコースの分子量は 180、グルコースの燃焼熱は 2820 kJ mol^{-1} 、菌体の燃焼熱は $22 \text{ kJ g-dry cell}^{-1}$ として以下の問いに答えよ。

- (1) 時間あたりの発熱量 (kJ) を求めよ。
- (2) 仮に培養液と外部の熱交換がない場合、増殖に伴う発熱によって培地温度は時間あたり何℃上昇するか求めよ。培地 1.0 L の温度を 1.0°C 上げるのに必要な熱量を 4.2 kJ とする。
- (3) 培養した微生物の菌体を乾燥し、その 100 g を元素分析に供したところ、炭素 48 g、水素 7.4 g、窒素 5.6 g の測定値が得られた。さらに強熱残渣により灰分は 7.0 % (w/w) であった。この微生物を分子式 $\text{CH}_\alpha\text{O}_\beta\text{N}_\gamma$ で表すとき α 、 β 、 γ に該当する値を求めよ。なお、原子量は $\text{C} = 12$ 、 $\text{H} = 1$ 、 $\text{O} = 16$ 、 $\text{N} = 14$ とし、 α 、 β 、 γ は整数とは限らない。

問題 2. (配点率 33/100)

ある好気性微生物を用いて、初期基質濃度を様々に変化させた回分培養を行い、対数増殖期の菌体の増殖と基質の消費から下図に示す結果を得た。



OD₆₆₀ = 1.0 は 0.25 g-dry cell L⁻¹ として、下記の問いに答えよ。計算結果は有効数字2桁にて示し、計算の過程、単位も示すこと。必要に応じて下記の数値を用いてよい。

X	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ln(X)	0.693	1.10	1.39	1.61	1.79	1.95	2.08	2.20	2.30

- (1) 上記の菌を用いてある初期基質濃度で回分培養を行った。培養開始 7.0 h 後まで対数増殖期が続き、OD₆₆₀ は 0.030 から 1.2 まで増加した。この間、比増殖速度一定と仮定して、世代時間を求めよ。さらに、基質の比消費速度も一定と仮定して、単位乾燥菌体量あたりの基質比消費速度を求めよ。
- (2) 対数増殖期における比増殖速度と基質の比消費速度は一定であり、比増殖速度と基質比消費速度は、図の実線で示されるように、一次関数の形で表現可能であった。この傾きと切片の意味を各々述べた後、各々の値を算出せよ。
- (3) この微生物は(1)の回分培養中に増殖連動型で生産物を生産し、比増殖速度 μ (h^{-1}) と比生産速度 π ($\text{g-product g-dry cell}^{-1} \text{h}^{-1}$) の間に $\pi = 0.25\mu$ の関係が成立していた。(1)の回分培養の対数増殖期における基質あたりの生産物収率を求めよ。

問題 3. (配点率 34/100)

遠心分離操作に関する次の文中の空欄に適切な数式または数値を記入せよ。問いはすべて Stokes 領域 (レイノルズ数 $Re_p \leq 0.03$) と仮定する。また、懸濁液中の粒子濃度は十分希薄であることから、自由沈降を仮定する。

直径 D_p (m)、密度 ρ_p (kg m^{-3}) の単一粒子が、一定角速度 ω (rad s^{-1}) で回転しているとき、回転軸から半径 r (m) の位置の遠心加速度は A であり、この粒子が密度 ρ_F (kg m^{-3})、粘度 μ_F ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$) の懸濁液中で運動すれば、粒子の沈降速度 v は次式で表される。

$$v = \frac{D_p^2(\rho_p - \rho_F)}{18\mu_F} \quad \boxed{\text{A}} \quad (\text{式 1})$$

いま、重力場による沈降速度を v_c とすれば、

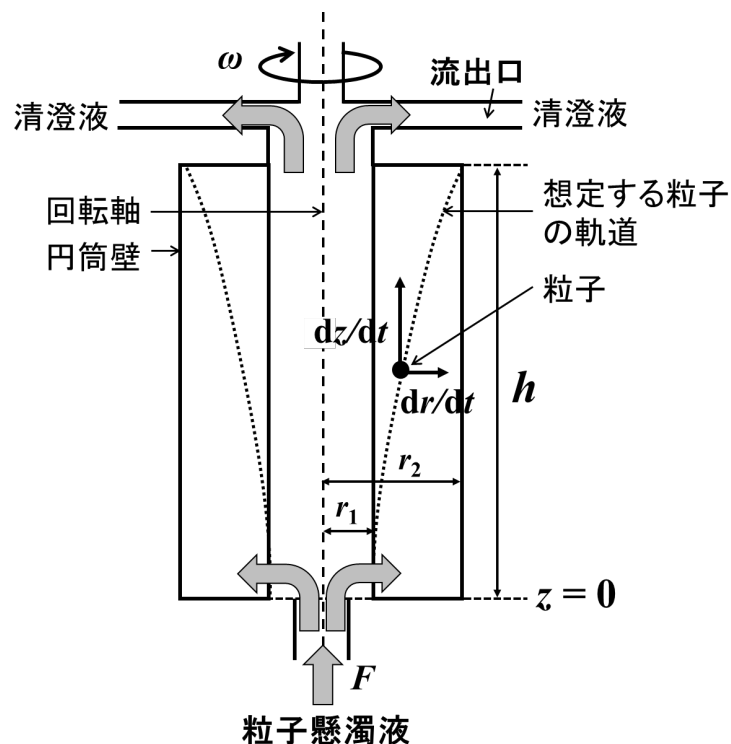
$$v_c = \frac{D_p^2(\rho_p - \rho_F)}{18\mu_F} g \quad (\text{式 2})$$

ここで、 v と v_c の間の関係は次式のように表現できる。

$$v = v_c Z \quad (\text{式 3})$$

ここで、 $Z(-)$ は遠心加速度と重力加速度 ($g = 9.81 \text{ m s}^{-2}$) に対する比であり、遠心効果を表す。

円筒型連続式遠心分離機 (下図) は、細長い円筒を回転させ、円筒の下部から懸濁液を連続的に供給し、粒子を含む懸濁液から清澄液を連続的に分離する。懸濁液中の粒子は、遠心分離機内で遠心力をはじめ種々の力の作用によって機内を移動するが、遠心分離機外に排出されるまでに粒子が円筒壁まで到達すれば、その粒子は捕集される。捕集可能な限界粒子径と供給流量の関係は、遠心分離機内の粒子の移動を考えることによって求められる。



回転軸から液面までの距離を r_1 、回転軸から円筒壁までの距離を r_2 、遠心分離機の高さを h とすれば、懸濁液からの粒子の半径方向の速度は、次の式になる。

$$\frac{dr}{dt} = \frac{r\omega^2 v_c}{g} \quad (\text{式 4})$$

(式 4) より粒子が半径 r_1 から r_2 まで移動するのに要する時間は次式で表される。

$$t = \boxed{\text{B}} \quad (\text{式 5})$$

また、粒子の軸方向の速度は、次の式になる。

$$\frac{dz}{dt} = \frac{F}{\pi(r_2^2 - r_1^2)} \quad (\text{式 6})$$

ここで、 F は原料の供給流量 ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) である。 $z = 0$ 、 $r = r_1$ で遠心分離機に入った粒子が $z = h$ 、 $r = r_2$ に到達すれば、その粒子は捕集されるから、これらの境界条件で (式 5) と (式 6) をそれぞれ積分したのち、時間の項を消去すれば、捕集可能な最大供給流量 F_c として次式を得る。

$$F_c = \boxed{\text{C}} \quad (\text{式 7})$$

粒子 ($D_p = 2.00 \times 10^{-6} \text{ m}$ 、密度 $\rho_p = 2.45 \times 10^3 \text{ kg m}^{-3}$) を含む懸濁液 (密度 $\rho_F = 0.950 \times 10^3 \text{ kg m}^{-3}$ 、粘度 $\mu_F = 1.50 \times 10^{-2} \text{ kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$) を固液分離している。粒子の重力沈降速度は $\boxed{\text{D}} \text{ m s}^{-1}$ と小さいので、円筒型連続式遠心分離機を用いる。円筒型連続式遠心分離機の寸法は、内筒半径 $r_1 = 5.00 \text{ cm}$ 、外筒半径 $r_2 = 10.0 \text{ cm}$ 、高さ $h = 100 \text{ cm}$ である。粒子懸濁液が装置下部から供給されると、装置下部のノズルから注入された粒子を含む懸濁液は、遠心力により分離し、粒子はローター内壁に沈殿し蓄積される一方で、清澄液は装置上部に設けられた流出口より排出される。

この円筒型連続式遠心分離機の回転数 $N = 6000 \text{ rpm}$ のとき、角速度 ω は $\boxed{\text{E}} \text{ rad s}^{-1}$ であり、内筒半径位置から流入した粒子が外筒壁に達する時間 t は $\boxed{\text{F}} \text{ s}$ となる。回転円筒内での流れが一様で、粒子が流れに乗って上昇すると仮定すると、装置内の液の上昇速度が $\boxed{\text{G}} \text{ m s}^{-1}$ 以下であれば、流入した粒子全て外筒壁に到達する。この条件で捕集可能な最大供給流量 F_c は $\boxed{\text{H}} \text{ m}^3 \text{s}^{-1}$ である。

なお、必要に応じて以下の数字を用いてよい。

$\ln(10.0) = 2.303$ 、 $\ln(5.0) = 1.609$ 。