

生物化学

及び

酵素化学

問1. 以下の問いに答えなさい。ただし、計算過程を記述し、水の密度は 1 g/mL とすること。

(1) 試薬 A (Mw: 200 g/mol) を終濃度  $5.0 \times 10^{-7}$  mol/L になるように培地に添加したい。

100 mL の培地に添加すべき試薬 A の質量を答えなさい。

(解答例)

$$200 \text{ (g/mol)} \times 5.0 \times 10^{-7} \text{ (mol/L)} \times 100/1000 \text{ (L)} = 1.0 \times 10^{-5} \text{ (g)} \text{ から } \mathbf{1.0 \times 10^{-5} \text{ (g)}}$$

(2) ある溶液の水酸化物イオン濃度が  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L のとき、この溶液の pH を答えなさい。

(解答例)

$$[\text{OH}^-] = 1.0 \times 10^{-4} \text{ より } -\log[\text{OH}^-] = 4, \text{ pH} + \text{pOH} = 14 \text{ から } \mathbf{\text{pH} = 10}$$

(3) 市販のリン酸を希釀して濃度 1.5% (v/v) のリン酸水溶液を 3 L 調製する。必要なリン酸の体積を答えなさい。

(解答例)

$$1.5 \times 1/100 \times 3 = 4.5 \times 10^{-2} \text{ (L)} \text{ から } \mathbf{4.5 \times 10^{-2} \text{ (L)}}$$

(4) NaCl を 100 ppm の濃度で含む水溶液を調製する。水 1 L に対して必要な NaCl の質量を答えなさい。

(解答例)

$$100 \text{ ppm} = 100 \text{ mg/L} \text{ から } \mathbf{100 \text{ mg}}$$

問2. 大豆レシチンはホスファチジルコリンを含むリン脂質の混合物である。以下の問いに答えなさい。

(1) 下記のア～ウに当てはまる語句を答えなさい。

ホスファチジルコリンはグリセロール骨格に親水性部位の  ア  イ  を介して結合し、さらに疎水性部位として 2 つの  ウ  が結合した構造をもつ。

(解答例)

ア：コリン、イ：リン酸、ウ：脂肪酸

(2) ① ホスファチジルコリンを主成分とする細胞の部位、およびそこでのホスファチジルコリンの機能について 100 字程度で説明しなさい。② またこの機能を参考に大豆レシチンが食品添加物として利用される際の役割について 100 字程度で説明しなさい。

(解答例)

- ① ホスファチジルコリンは細胞膜の主要成分である。疎水性である脂肪酸部位を内側、親水性であるコリン部位を外側に向けた脂質二重層の構造をとり細胞内外の物質の移動を制限している。
- ② ホスファチジルコリンは脂質二重層の構造をとることから、油脂成分と水がミセル構造を形成するのに役立つ。このため、ドレッシングなどの油と水を混合する目的で食品添加物として利用されている。

問3. 酵素の反応速度に関する以下の問い合わせに答えなさい。

- (1)  $k_{cat} = 200 \text{ sec}^{-1}$  である酵素を  $1 \mu\text{mol}$  含む反応液において、最大反応速度で反応が進行すると仮定して、反応液中に  $10 \text{ mmol}$  の生成物を得るために必要な時間を計算しなさい。計算過程についても記述しなさい。

(解答例) 回転数が 1 秒あたり 200 なので、酵素  $1\mu\text{mol}$  からは、1 秒間に  $200\mu\text{mol}$  の生成物が生じることになる。これは  $0.2 \text{ mmol}$  に相当するため、 $10 \text{ mmol}$  の生成物を得るために必要な時間は、50 秒となる。

- (2) 基質濃度と反応速度をプロットした時にシグモイド型をとる酵素は、代謝経路の重要な調節点となる反応を触媒することが多い。①ミカエリス-メンテンの式に従う酵素との違いについて、特に基質濃度と反応速度の関係を中心に 200 字程度で説明しなさい。②また、その違いから、代謝経路の調節にシグモイド型の酵素が関わることの利点について 200 字程度で説明しなさい。

(解答例)

- ① シグモイド型酵素とは、基質濃度が高くなるにつれて、S 字カーブをとるように反応速度が増加する酵素である。この型の酵素は 1 分子中に複数の基質結合部位が存在し、一つの基質結合部位に基質が結合すると、他の基質結合部位における基質親和性が高まることで基質が結合しやすくなる。一方、ミカエリス-メンテン型酵素は、基質が低濃度域では基質濃度に比例するように反応速度が増加する酵素である。
- ② 代謝経路の調節では、代謝経路を流れる物質の量の制御が重要である。細胞が必要とする量に応じて生成物が作られるのが望ましい。そのため、代謝経路の重要なポイントでは、基質濃度の少しの変化で、反応を触媒する酵素の活性がオンオフされること

が望ましい。したがって、基質濃度が少し高くなると急激に活性が増加するシグモイド型酵素は、代謝経路の調節に適していると考えられる。

問4. ヒスチジンタグがついたタンパク質を硫安分画とアフィニティクロマトグラフィーにより精製した。以下の問い合わせに答えなさい。

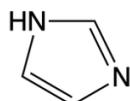
(1) 下記の精製表の A~D に当てはまる値を答えなさい。

精製段階	タンパク質量 (mg)	総酵素活性 (U)	比活性 (U/mg)	収率 (%)	精製倍数
粗酵素溶液	100	500	5	100	1.0
硫安分画	50	400	A	80	B
アフィニティクロマトグラフィー	5	C	20	D	4.0

(解答例)

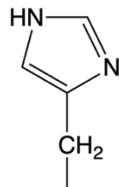
A 8、B 1.6、C 100、D 20

(2) ヒスチジンタグがついたタンパク質の精製では  $\text{Ni}^{2+}$  イオンが結合した担体と溶出溶液としてイミダゾール溶液を用いたアフィニティクロマトグラフィーを行う。例を参考に、ヒスチジン側鎖の構造式を書き、「ヒスチジン」「 $\text{Ni}^{2+}$  イオン」「イミダゾール」の関係を明確にしてアフィニティクロマトグラフィーの原理を 200 字程度で説明しなさい。



例：イミダゾール

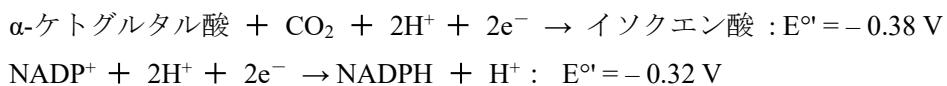
(解答例)



ヒスチジン

ヒスチジンタグを利用するアフィニティクロマトグラフィーでは、ヒスチジンは金属イオンである  $\text{Ni}^{2+}$  イオンと特異的に強く結合する性質を利用している。このため、ヒスチジンタグがついたタンパク質を  $\text{Ni}^{2+}$  イオンが結合した担体に通すことで、当該タンパク質を担体に吸着させることができる。溶出させるときはヒスチジンよりも  $\text{Ni}^{2+}$  イオンとの結合能が高いイミダゾールを含む溶出液を担体に通すことで、当該タンパク質を担体から解離させ溶出することができる。

問 5. 下記の半反応式がある。以下の問い合わせに答えなさい。有効数字は 4 桁とする。

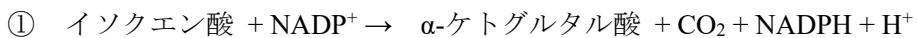


① 組み合わされた時の全反応式を完成させなさい。② また pH 7、25°C における標準自由エネルギー変化を計算しなさい。

解答にあたっては計算過程を示し、計算には次の数値を用いなさい。

フアラデー定数 : 96.48 kJ/V/mol

(解答例)



$$\begin{aligned}\text{② } \Delta G^\circ &= -2 \times 96.48 \times (-0.32 - (-0.38)) \\ &= -11.58 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

問 6. Rubisco に関する以下の問い合わせについて、Rubisco に焦点をあてて答えなさい。

(1) 明条件下では暗条件下と比較して、葉緑体に含まれる Rubisco は複数の要因により活性が向上する。Rubisco の活性化に関与する要因として 2 つ挙げ、活性化されるメカニズムと光条件の関係についてそれぞれ 200 字程度で説明しなさい。

(解答例)

要因 1 : Rubisco は至適 pH が弱アルカリ側にあり、およそ pH8.2 となっている。暗条件下では、葉緑体ルーメンへのプロトン輸送が行われないため、ストロマの pH は中性付近にあり、Rubisco は活性が低い。しかし、明条件下ではルーメンへのプロトン輸送の結果、ストロマの pH は 8 程度となり、活性が向上する。

要因2：明条件下では、ルーメンにプロトンが輸送され、それにともない、Mgイオンがルーメンからストロマに輸送される。RubiscoはMgイオンによって活性化される。

- (2) 光呼吸が生じてしまうと、バイオマス収量の低下につながる。① 光呼吸について100字程度で説明しなさい。② 加えて、C4植物において観察される、光呼吸が生じにくくするようなメカニズムについて100字程度で説明しなさい。

(解答例)

- ① 光呼吸は、植物体として光照射下で、酸素を吸収し、二酸化炭素を排出するものである。植物に吸収された酸素は、Rubiscoにおいて二酸化炭素に替わってリブロース1,5-ビスリン酸と反応する。
- ② 酸素分圧が高いとこの反応が生じるために、C4植物ではRubiscoが働く細胞に周囲の細胞から二酸化炭素を送りこむシステムがあり、Rubisco分子の周囲の酸素分圧が高くならないように工夫している。

#### 出題意図

生物化学および酵素化学の範囲で生体内での酵素や生体分子の機能についての理解度を図ることを目的としています。研究手法や生理機能ならびにその応用面について論理的に説明する能力を評価します。

# 有機化學

## 【博士前期課程（2025年10月入学及び2026年4月入学）】

### 入試問題（有機化学） 解答例および出題意図

#### 問1. 【解答例】

- (1) ○
- (2) ピリジンの非共有電子対は環内の共役系に関与しない。よって環内の  $\pi$  電子は 6 個であり Hückel 則を満たすため芳香族性を示す。
- (3) DMSO は非プロトン性溶媒であり、フェノールのアルコール性プロトンと重水素交換が起こらないためピークは消失しない。
- (4) 溶媒は求核試薬の反応性に大きく影響するため、S<sub>N</sub>2 反応においても大きな影響を及ぼす。
- (5) グリシンのメチルエステルはアキラルなため、ラセミ体に加えてもジアステレオマー塩とはならずシリカゲルカラムクロマトグラフィーでは分離できない。

その他適切な解答であれば正解とする。

#### 【出題意図】

Lewis の酸塩基、芳香族性、反応化学、立体化学など有機化学の基本的な知識を有しているかを問う。

#### 問2. 【解答例】

- (1) (b) > (a) > (c) : ハロゲン原子の誘起効果による共役塩基の安定化はカルボン酸に近いほど強く、塩素原子よりも電気陰性度が高いフッ素の方が強い。
- (2) (b) > (c) > (a) : 共役塩基の安定化はフッ素原子の誘起効果よりもニトロ基による共鳴効果の方が強い。メトキシ基は電子供与性基のため共役塩基を不安定化するため最も高い pK<sub>a</sub> 値を示す。
- (3) (c) > (b) > (a) : ケトンの  $\alpha$  水素は共役塩基が共鳴安定化を受けるため、 $\beta$  水素よりも pK<sub>a</sub> 値が低い。ジケトンの  $\alpha$  水素の共役塩基はさらに強い共鳴安定化を受けるため最も低い pK<sub>a</sub> 値を示す。

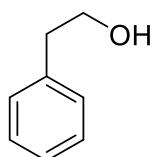
上記以外の説明でも適切であれば正解とする。

#### 【出題意図】

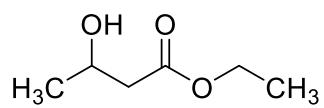
化合物の酸性度に影響する誘起効果および共鳴効果について正しく理解し、化合物の pK<sub>a</sub> の高低を正しく予想できるかを問う。

問3. 【解答例】

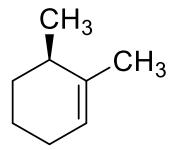
A



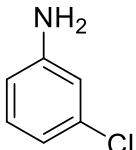
B



C



D

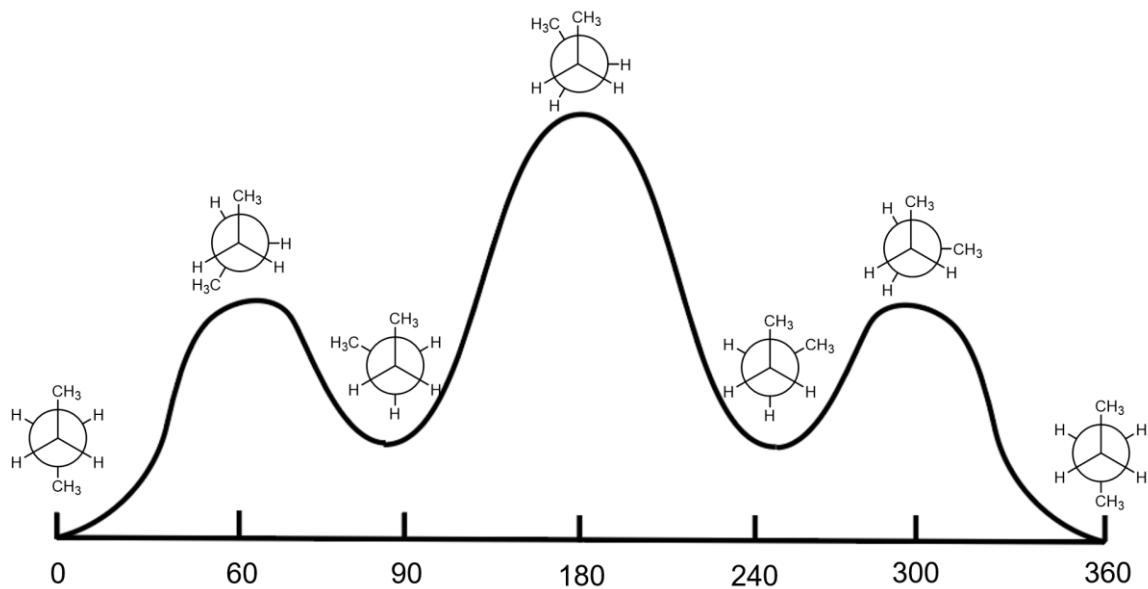


構造式は上記以外のものでも正しければ正解とする。

【出題意図】

有機反応を幅広く理解し、多段階に渡る反応後の生成物の構造を立体構造も含めて正しく予想できるかを問う。

問4. 【解答例】



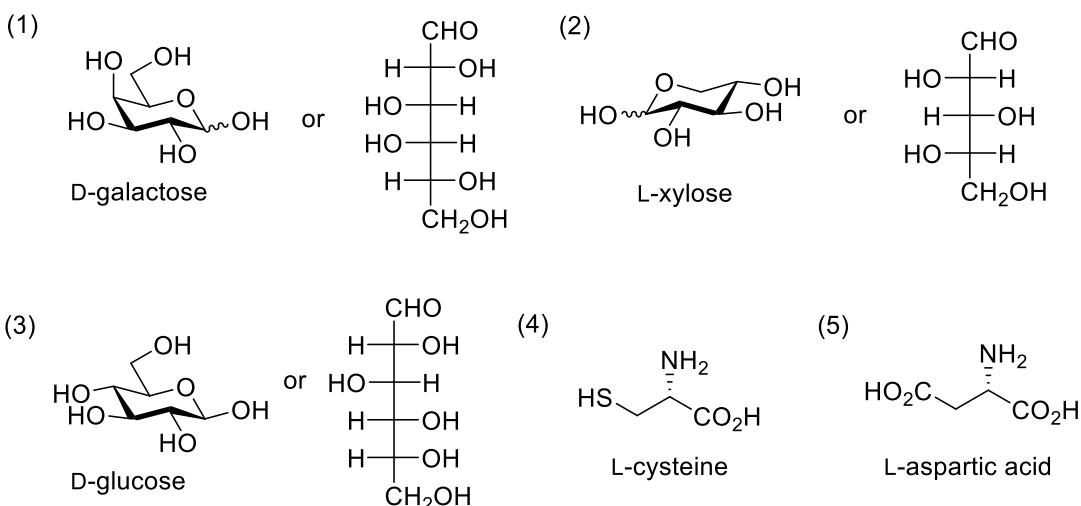
メチル基同士が  $180^\circ$  離れたアンチ配座では最もエネルギーが低い。そこから C2-C3 軸に沿って  $60^\circ$  回転させると、メチル基と水素原子が重なるエクリプス配座となり、エネルギーは上昇する。さらに  $60^\circ$  回転するとゴーシュ配座となり、エクリプスよりは安定だがメチル基同士の立体反発によりアンチよりは高い。さらに  $60^\circ$  回転すると、メチル基同士が正面で重なるエクリプス配座となり、最も不安定な状態となる。そこからさらに回転を続けると、再びゴーシュ→エクリプス→アンチの順に繰り返される。

各配座のエネルギー記入する必要はない。

【出題意図】

アルカンの立体配座に伴うエネルギー変化を理解できていること、およびそれについてエネルギー図と Newman 投影式を用いて正しく説明できるかを問う。

問5. 【解答例】

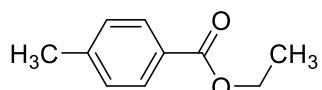


(1) および (3) は他の化合物でも可。名称は和名でも正解とする。

【出題意図】

天然の糖質およびアミノ酸の立体化学を含む構造を理解し、提示された条件に沿う化合物の正しい構造式と名称を解答できるかを問う。

問6. 【解答例】



7-8ppm に観測された芳香環由来の 2 つのダブルレットはともに 2H であるため、芳香族カルボン酸はパラ置換型であると考えられる。2.4ppm 付近に観測された 3H 分のシングルレットのピークがあることからこの化合物はメチル基が存在することが予想される。また、1.3ppm 付近の 3H 分のトリプレット、4.3ppm 付近に 2H 分のカルテットがあることから、この化合物はエチル基を持つと考えられる。エチル基のメチレン基のピークがメチル基よりも低磁場に現れていることから、エチル基は酸素原子に結合している、すなわちエチルエステルであることが分かる。そしてメチル基は芳香環上にあることが予想されるため、結果として上記のような構造を持つと予想される。

構造式が正しく導き出されていれば上記以外の説明でも可。

【出題意図】

<sup>1</sup>H NMR スペクトルを解析し、与えられた分子式とともに有機化合物の構造を正しく予想できるかを問う。

# 生物資源利用学

## ■解答例

### 問 1

#### (1) ファットスプレッド

マーガリン類に属し、油脂含有率が 80%未満のものをさす。マーガリンに比べて油分が少なく、水分の割合が多いためカロリーが少なくて柔らかい特徴をもつ。風味原料と呼ばれる果実や果実加工品などの風味をつけることが許可されている。(110 文字)

#### (2) ブリックス (Brix)

主に食品産業のワイン、精糖などで、ショ糖や果糖、転化糖、ブドウ糖など、いわゆる糖の含有量を測るために、糖度として用いられる物理量。Brix 値は 20°C のショ糖溶液の質量百分率に相当する値で定められている。(101 文字)

#### (3) シクロデキストリン

天然でんぶんに *Bacillus macerans* のサイクロデキストリン合成酵素（シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ）を作用させて作る非還元性の環状マルトオリゴ糖。構成するグルコースの数により  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  の 3 種類が存在する。環状の内側に疎水性基、外側に親水性基を持ち、環状内部に疎水性の分子を包接することが可能である。(162 文字)

#### (4) カルタヘナ法

国際的に協力して遺伝子組換え生物等の使用等の規制に関する措置を講ずることにより生物の多様性の確保を図るための条約（カルタヘナ議定書）の的確かつ円滑な実施を確保するための法律。(87 文字)

#### (5) ウィンタリング

油脂の分別方法の 1 つで、融点の違いを利用して、油脂を冷却して固体油脂を析出させ、除去する方法。脱ろうとも呼ばれ、得られた油脂をウィンターオイルとも言う。(75 文字)

#### (6) テンパリング

焼き戻しや調質のことをさし、小麦粉の製造においては、ロール機にかける前に小麦粉に水分を含ませる調質作業のことをさす。またチョコレート製造では、チョコレートを溶かして、カカオバターの結晶を安定化させる温度調節作業のことをさす。(112 文字)

#### (7) 中間水分食品

水分を 20 ~ 40 %も含むにもかかわらず、水分活性値が 0.65 ~ 0.85 に該当する食品で、水分の多い食品と乾燥食品の間に属する食品をさす。ジャムやサラミ、ソーセージ、佃煮などが該当する。(92 文字)

#### (8) フラクトオリゴ糖

スクロースのフルクトース残基にフルクトース転移酵素を作用させてフルクトースの 1 ~ 3 分子を  $\beta$ -2, 1 結合させた一連のオリゴ糖の総称。ヒトの消化酵素ではほとんど分解できず、血糖値を上げない。プレバイオティクスとしてビフィズス菌の増殖作用をもつ機能性オリゴ糖。特定保健用食品として認定されている。(145 文字)

問 2.

(1)

ジャガイモでん粉は原料となるジャガイモを洗浄して不純物を取り除いた後、芋を磨碎し細胞破壊を行うことで組織よりでん粉を溶出させる。ふるいにかけてでんぶん粕を除去し、沈殿槽内で比重の違いででんぶん乳を沈殿させる。ノズルセパレーターによりでんぶん乳の濃縮を行い、その後水洗いにより、纖維質などの不純物を除去し、乾燥させて製品を得る。

一方、小麦粉から得られるでん粉は、小麦粉に加水して混和することで生地 (Dough) を形成し、ねかせた後、これを水洗いするととことでデンプン乳が分離する。その後、ふるい分け精製し、遠心分離などで脱水したデンプンを乾燥して製品を得る。

小麦粉由来のでん粉は粒径が  $5\text{ }\mu\text{m}$  ぐらいのものと  $20\text{ }\mu\text{m}$  程度のものに 2 分されるのに対し、ジャガイモでん粉は  $50\text{ }\mu\text{m}$  と大きい。さらにジャガイモでん粉は小麦粉由来のでん粉に比べ糊化温度が低く、最高粘度が高い特徴をもつ。

(2)

脱脂大豆は大豆をフレーク状にし、溶媒により脂質を除いた粕で、含油率 1%以下となったものをさす。タンパク質含量が高いため、大豆たんぱく質の主原料として広く用いられる。含まれるタンパク質の水溶性率の違いから高変性脱脂大豆、中変性脱脂大豆、低変性脱脂大豆と呼ばれる。(82 文字)

大豆たんぱくカードは主に低変性脱脂大豆に水を加え加熱後、塩化カルシウムを加えてタンパク質やその他の不溶性物質を沈殿させる。その沈殿物を水洗いし、脱水後よく練ったもの。

濃縮大豆たんぱくは、脱脂大豆中のタンパク質以外の可溶性成分（主に糖）をアルコールまたは薄い酸を用いて除去し、アルコール除去あるいは酸を中和した後、乾燥させたもので、脱脂大豆から主に糖類と灰分を除去したもの。

分離大豆たんぱくは低変性脱脂大豆を水またはアルカリで処理してタンパク質等を抽出後、ろ過し、不純物を除去する。ろ液に酸を加え pH4.3 程度に調節することで可溶化していたタンパク質を沈殿させる。この沈殿物を遠心脱水し、水洗いを繰り返して精製したもので、脱脂大豆からタンパク質を分離精製したもの。

(3)

ポリカプロラクトン

$\epsilon$ -カプロラクトンの合成によって得られた高分子化合物。低い融点 ( $60^\circ\text{C}$ ) でありながら、 $200^\circ\text{C}$ 以上でも安定な熱可塑性のプラスチック。フィルムへの実用化が実現し、マルチフィルムやコンポスト用袋などに使われるほか、バラ緩衝材や釣り糸、魚網などにも使われている。

ポリ乳酸

でんぶん発酵などによってつくられた L-乳酸を、化学重合法で合成した高分子。透明性や物理特性（ヒートシール可能、カラー印刷可能）にすぐれた特徴を持ち、既に実用化されている。低濃度のアルカリ溶液で分解し乳酸に戻る性質をもつ。

【解説】

石油由来生分解性プラスチックとして、ポリカプロラクトン、ポリブチレンサクシネート、芳香族導入ポリエステル、ポリビニルアルコール、ポリグリコール酸な

ど。バイオマス由来生分解性プラスチックとしてポリ乳酸、微生物生産ポリエステル、ポリアミノ酸、化学修飾多糖類などについて 1 つずつ取り上げて、適切な説明がされていればよい。

- ・使用後に環境中の微生物により水と二酸化炭素にまで分解されるので、環境への負荷が低減する。
  - ・堆肥や土壤改良材として、大地に還元できるため、循環型社会の実現に寄与する。
  - ・農林水産資材（マルチフィルム、ポット、蔓（つる）ひも、植生ネット等）や建設資材（土のう袋、杭、型板等）として使用後、回収や取り外しする必要がなく、省力化に役立つ。
- 
- ・価格面で従来のプラスチックに比べて高価である
  - ・物性や成形性、性能について従来品を凌駕すると評価されるものが少ない

#### (4)

ファイタルティミュレーションは根から分泌される物質や酵素などによって汚染地域に元々存在している根圈微生物を賦活化させ、活性化された微生物の働きで汚染物質を分解、無害化させる方法。

ファイタルティミュレーションは、根の細胞表面および細胞内に無機あるいは有機の汚染物質を沈殿・吸収・固定化することが可能な植物を用い、環境への拡散を防ぐ手法。拡散防止が目的となり、汚染物質の除去・分解が目的ではない。

##### 長所

- ・初期コストが低い。
- ・自然のプロセス（常温、常圧）を利用してエネルギーをあまり必要としない。
- ・他の生物相への影響が小さい。

##### 短所

- ・浄化に時間要し、即効性が無い。
- ・完全な除去が出来ない。
- ・植物の育つ生育環境でなければならぬため、環境要因の影響が大きい。

ファイタルティミュレーションは、浄化に用いる植物の種子を汚染場所に播種するだけだが、高濃度の汚染を短時間で処理できないため、このような場所での浄化にはむかず、浄化目標に近づいた低濃度で広域に広がった汚染場所の拡散防止技術として最も有効であると考えられる。植物の生育する環境で、根の届く表層の汚染に対して浄化が可能なため、浅層地下水中的有機塩素化合物、表流水中の重金属、土壤・表流水中の放射性物質、土壤中の油類、土壤・表流水中の火薬類、地下水中の過剰肥料等の除去または浄化に効果があると考えられる。（247 文字）

#### (5)

転写調節因子 A を大腸菌タンパク質発現系によりリコンビナントタンパク質として作製する。得られたリコンビナントタンパク質は担体に結合させ、これをランダムに合成した DNA と反応させる。その後、結合していない DNA を洗浄し、結合した DNA は PCR により増幅する。増幅した DNA 断片は再度リコンビナントタンパク質に結合させる。この結合と洗浄、その後の PCR による DNA 増幅を 10 回程度繰り返して、リコンビナントタンパク質として作製した転写調節因子 A に結合する DNA を濃縮する。その後第 2 世代シーケンサー等を用いて増幅された DNA の配列を決定する。得られた DNA 配

列情報はクラスター解析することで、共通する DNA 配列（シスエレメント）を見つける。次に得られたシスエレメントをゲノムデータベース上で調べ、存在場所の特性から制御する遺伝子を類推し、一過的発現解析などを通して転写活性を調べ、転写調節因子 A が発現制御する遺伝子を明らかにする。

### 【解説】

DNA SELEX 法で結合配列を明らかにし、転写調節因子 A をもつ生物のゲノム情報から結合位置を明らかにする。またその結合領域の情報から転写調節因子 A により制御される遺伝子を類推する。あるいは、DAP-Seq 解析や Chip 解析により転写調節因子 A が結合する DNA 領域を明らかにする方法など、適切に述べられていればよい。

### ■出題意図

本問は、生物資源利用学に関する専門知識を問う内容です。大学院での研究遂行に不可欠な専門知識の習得度だけでなく、学問的な思考や論証能力、文章を的確に記述する能力も審査します。

問 1 では、食品の製造に関する用語について正しく理解できているか問うています。問 2 (1) (2) では食品製造の工程を説明でき、各工程における意味合いを正しく理解しているか問うています。これらは実験を行う上でのプロトコール作成においても重要です。(3) では、生物資源を利用したプラスチックや生分解性のプラスチックに関する正しい知識があるかどうか、また技術を実際に応用する場合の問題点が理解できているかどうか問うています。(4) では、生物資源の中でも特に我々の研究分野で求められる植物を用いた利用法として土壤の浄化に関して正しい知識を持っているか、また正しく問題点をみつけられているか、さらにそれらから判断して正しい利用法が見つけられるかどうかを問うています。(3)、(4) に関しては、実際に行っている研究の利点や問題点を見つけ、それらから応用面を考えることが正しく出来るか問うています。(5) では、転写因子のシスエレメントの解析方法に関して分子生物学的な知識や、バイオインフォマティクスの基礎的な知識を持っているか問うています。特に最新の研究について関心をもち、それに用いられる技術等の基礎知識を持っているかどうか問うています。

これらを通して大学院での高度な学修と研究を主体的に進める上で求められる能力を総合的に測ることを意図しています。

# 分子生物学

<応用生命化学領域・分子生物学 2025 : 解答例>

問 1.

(1) RNA に存在する修飾ヌクレオシドで、ウリジンの異性体であり、細胞内では酵素反応によって生じる。RNA の安定性や翻訳効率を高める役割があり、コロナウィルスに対する mRNA ワクチンにも応用された。

(2) DNA の相同的塩基配列間で分子間の交換（組換え）が起こる過程であり、生物のゲノム修復や多様性の創出にも関与するほか、遺伝子操作技術にも利用される。バクテリアでは RecA が重要な役割を果たす。

(3) バクテリアが産生する加水分解酵素で、ペニシリンやアンピシリンなどの  $\beta$ -ラクタム系抗生物質を分解し、耐性を与える。プラスミドのアンピシリン耐性遺伝子から合成される酵素タンパク質でもある。

(4) DNA や RNA などの核酸とタンパク質の結合を検出する生化学的実験法の一つであり、EMSA 法とも呼ばれる。複合体が単体よりもゲル中で移動しにくくなり、移動度が短くなる現象を利用している。

(5) mRNA 配列中の終止コドンを認識し、リボソームに結合することで、翻訳を終結させるタンパク質である。このタンパク質は合成されたポリペプチドをリボソームから放出させるため、release factor と呼ばれる。

(6) DNA の塩基配列が変化しても、タンパク質のアミノ酸配列には変化が起きない変異のこと。コドンが縮重しているため、特にコドンの 3 番目の塩基に相当する DNA 配列が変異した場合によく見られる。

(7) SCF 複合体の 3 つの構成要素のうちの 1 つであり、少なくとも 1 つの F-box ドメインを含むタンパク質の総称であり、26S プロテアソームによる分解の標的となるタンパク質のユビキチン化を触媒する。

問2.

(1) × : PCR は DNA ポリメラーゼによる DNA 合成反応であるため、基質は dATP、dCTP、dGTP、および dTTP の 4 種である。

(2) × : 原核生物には真核生物で見られるスプライソームは存在しないが、一部の mRNA にはイントロン（グループ I イントロン、グループ II イントロン）が含まれ、スプライシング反応によって除去される。

(3) × : バクテリアのゲノムは直鎖状でなく環状のものが多い。また、ウイルスのゲノムは直鎖 2 本鎖 DNA に限らず、1 本鎖 DNA、1 本鎖 RNA、2 本鎖 RNA など多様である。

（一方が正解の場合は、部分点を与える）

(4) × : ペニシリンはリボソームではなく、細胞壁合成酵素（トランスペプチダーゼ）を阻害する。また、スペクチノマイシンはリボソームの 30S サブユニットに結合し、翻訳の誤読を誘導するため、RNA ポリメラーゼを直接の標的とはしない。

（一方が正解の場合は、部分点を与える）

問3.

(1) 抽出したタンパク質の溶液の濃度は 1,500 μg/mL、すなわち 1.5 μg/μL である。反応で使用するタンパク質は 5 μg であるため、 $5/1.5=3.33 \mu\text{L}$  が必要である。

(2)

- ① G-C 塩基対の数は 1,548 個であるため、A-T 塩基対の数は  $2,907-1,548=1,359$  個
- ② グアニンの数はシトシンと同じ 1,548 個、A-T 塩基対の数からアデニンの数は 1,359 個であるから、プリンの数は  $1,548+1,359=2,907$  個（シャルガフの法則からの算出でも良い）
- ③  $(3\times1,548)+(2\times1,359)=7,362$  本

問4.

(1)

高等植物において、葉緑体ゲノムの転写制御に関わるシグマ因子は、RNAポリメラーゼのホロ酵素を構成しており、プロモーターの認識と転写反応の開始に関わる。大腸菌やシアノバクテリアなどの原核生物で見られるシグマ因子との相同性が高く、コア酵素との相互作用ドメインの他に、プロモーターのコンセンサス配列を認識するDNA結合ドメインを有している。シロイヌナズナには6種類のシグマ因子(SIG1-SIG6)が存在しており、それらのうちSIG5が強光ストレス・乾燥ストレス・低温ストレス・塩ストレスといった広範な環境ストレスに応答して特異的に発現し、葉緑体ゲノム上の特に光合成に関わる遺伝子(*psbD* *BLRP*など)の転写制御に関与している。このシグマ因子の発現はストレスに深く関わる植物ホルモンであるアブシシン酸に強く依存することが知られており、細胞・組織レベルのストレスの情報を感知して、SIG5を介した転写制御により、葉緑体の光合成機能を保護・修復していると考えられている。

(2)

イムノプロットで複数のバンドが出る理由として、全く非特異的なタンパク質を検出している可能性の他に、相同性の高いパラログ遺伝子から転写・翻訳される(ただしサイズは異なる)タンパク質を検出している可能性、目的タンパク質の分解産物を検出している可能性、選択的スプライシングやRNA編集により一部の配列が失われたバリエントを検出している可能性、さらに、大きいサイズの方にシフトする場合は、リン酸化やユビキチン化などの修飾タンパク質を認識している可能性などが考えられる。

これら複数のバンドのうち、何れが目的タンパク質のものであるかを推定する方法としては、目的タンパク質の遺伝子の欠損株から同様にタンパク質を抽出し比較する、免疫前血清を用いて非特異的なバンドを除外する、GFPなどのタグを付加した目的タンパク質を発現する形質転換株を作出し、タグに対する抗体も併用したサイズ比較により推定する方法などが考えられる。

(3)

<原核生物>

- ・リボスイッチによる翻訳制御

特定の mRNA に存在するリボスイッチが、代謝物と結合することで mRNA の構造を変化させ、リボソーム結合部位のアクセスを阻害して翻訳を制御する。

(ほか、アンチセンス RNA や 100S リボソームによる制御でも可)

<真核生物>

- ・miRNA による転写後制御

miRNA が相補的な mRNA に結合し、その分解を誘導したり翻訳を抑制したりすることで、遺伝子発現量を調節する。

(ほか、mRNA の局在やスプライシング、polyA、塩基修飾による制御でも可)

(4)

① 5'プライマー : 5'-ATGCGTACAACACACCTATGGC-3' (Tm 値=60°C)

(これ以上長ければ可。ただし 3'プライマーとのダイマー形成する長さの記載は×)

3'プライマー : 5'- TTAatgatgatgatgatgatgACCGC GAAGTCGTAAACTTC-3'

(Tm 値=62°C)

(これ以上長ければ可。ただし 5'プライマーとのダイマー形成する長さの記載は×。His コドンは CAC でも可)

② N 末端 : MRTT、C 末端 : HHHH

## <応用生命化学領域・分子生物学 2025 : 出題意図>

本問は、応用生命化学領域における研究を遂行する上で必要な分子生物学の基礎知識、関連する実験の原理、思考力、応用力、論理力、問題解決力、文章表現力を総合的に測ることを意図している。一般的な教科書に記載されている事項に加え、学部生の高学年次で身につけた研究分野の具体的知見や、研究を達成するために必要な実験やその原理、研究を実施する上で直面する生体分子の取り扱いに関する計算問題も含まれ、大学院での高度な学修と研究を主体的に進める上で求められる能力を試問している。

### 問 1

分子生物学分野の研究を行う上で必要な基本用語、基本現象、基本手法の知識と理解力を問う。

### 問 2

分子生物学分野の基本的な知識や実験操作に基づき、説明文の正誤を適切に判定する力を問う。

### 問 3

分子生物学の研究で常用されるサンプル調製のための濃度計算や、分子生物学の基本である DNA の塩基対合の原理の理解を踏まえた四則演算による計算の能力を問う。

### 問 4

- (1) 植物や微生物の環境応答を題材に、論文情報の収集によって得られた知見を分子生物学的側面から整理し、多面的に論述できる能力を問う。
- (2) 分子生物学分野において、実際の実験において直面するケースを設定し、その原因と問題解決に向けた方針を具体的に提案できる能力を問う。
- (3) 分子生物学の基本であるセントラルドグマの諸過程における遺伝子発現制御機構に関する知識や理解、文章記述力を問う。
- (4) 分子生物学分野の基本実験操作である PCR を実施するために必要な実質的な知識やスキルの能力の有無を問う。また、分子生物学の基本である遺伝暗号表の見方の習得の有無を問う。

# 食品栄養学

千葉大学大学院園芸学研究科博士前期課程（2025年10月入学及び2026年4月入学  
入学試験問題【専門科目（指定科目）】

食品栄養学

問1. 食品中の水分に関して次の問い合わせに答えなさい

- (1) 水分活性について説明し、水分活性と微生物の生育との関係について述べなさい。
- (2) 履歴現象と履歴ループについて説明し、その意義について述べなさい。

●出題意図：食品の保藏に重要な水分活性の定義、性質および履歴現象と履歴ループの意義と活用についての理解度を問う。

●解答

(1) 水分活性とはある一定の温度における食品の蒸気圧と同じ温度における純水の蒸気圧で除して比率で表したもの。微生物に利用されやすい自由水が多い食品の水分活性は1に近い。水分活性が0.9以上だと細菌により腐敗するが多く、0.7以下だと大部分の微生物は増殖できない。

(2) 食品を密閉容器に入れて、一定温度に放置すると水分は蒸発し、平衡状態に達する。平衡状態の水分含量を縦軸、水分活性を横軸にすると等温吸湿・脱湿曲線が得られる。食品の吸湿と脱湿は可逆的に進行するのではなく、等温吸湿・脱湿曲線の履歴ループに示されるような吸湿と脱湿の差が生じる現象である履歴現象を示す。同種の食品であればほぼ同じ履歴ループが得られ、同種の食品の貯蔵性を予測できるため、水分の状況を知るうえで大変有用である。

問2. 食品中でメラノイジンを生成する非酵素的褐変反応の機構について説明しなさい。

●出題意図：食品の保藏に重要な褐変現象の機構についての理解度を問う。

●解答

非酵素的褐変反応であるアミノ・カルボニル反応はアミノ化合物とカルボニル化合物との間に起こる反応であり、反応過程は初期、中期、終期の段階に分かれる。初期ではアミノ基とカルボニル基の縮合によりシップ塩基（窒素配糖体）を形成する。次にアマドリ転移し、アミノレダクトン、アミノケトンを生成する（アマドリ転移生成物）。中期段階ではアマドリ転移生成物からエノール化が起りレダクトンとなり、これが脱水、酸化、脱アミン反応などを受け種々のカルボニル化合物が生成する。最終段階では中間段階で生成した中間体が単独あるいは窒素化合物と縮合し、褐色の高分子重合体であるメラノイジンを形成する。

問3. 摂取したたんぱく質の消化管における消化吸收の過程について説明しなさい。

●出題意図：3大栄養素の1つであるたんぱく質の消化吸收のしくみを正しく理解しているかを問う。

●解答

たんぱく質ははじめに胃液中のペプシンによりポリペプチド、オリゴペプチドに分解される。そして胰液中のトリプシン、キモトリプシンにより、管腔内でオリゴペプチドまで分解される。次に微絨毛膜に局在するアミノペプチダーゼ、ジペプチダーゼなどによりアミノ酸やジペプチド、トリペプチドまで分解される。この膜消化によって生じたアミノ酸は、微絨毛膜と側低膜に存在する輸送体を介して吸収される。細胞内のアミノ酸は毛細血管に移行し、門脈から肝臓へ輸送される。

#### 問4. 次の問い合わせに答えなさい。

- (1) 肝臓のグリコーゲンの合成と分解を調節するホルモンを3つ挙げなさい。
- (2) 窒素原子と硫黄原子を含む水溶性ビタミンの名称と欠乏症を述べなさい。
- (3) 単純たんぱく質であるアルブミンとグロブリンの溶媒への溶解性について述べなさい。

●出題意図：①糖代謝で重要なグリコーゲンの調節、②ビタミンの構造式と欠乏症、③単純たんぱく質の溶媒への溶解性による分類を正しく理解しているかを問う。

#### ●解答

- (1) インスリン、グルカゴン、アドレナリン（エピネフリン）
- (2) ビタミンB1  
欠乏症：脚気、ウエルニッケ脳症  
ビオチン  
欠乏症：皮膚炎、舌炎症、食欲不振
- (3) アルブミンは水溶性であるがグロブリンは水には不溶。どちらも希塩類、希酸、希アルカリには溶解するが70～80%アルコールには不溶。

#### 問5. 脂肪酸の生合成経路について、説明しなさい。

●出題意図：脂肪酸の生合成経路は、哺乳動物において生体内で生じた余剰エネルギーを脂肪として蓄積するために必須の経路である。その化学反応の仕組みについての理解度を問う。

#### ●解答

脂肪酸の生合成は、肝臓や脂肪組織において、アセチルCoAを素材として細胞質で生じる。まず、解糖系で生じたアセチルCoAはオキサロ酢酸と結合してクエン酸となってミトコンドリア外に出るが、その後、再度アセチルCoAに分解されてから利用される。細胞質では、アセチルCoAカルボキシラーゼ(ACC)および脂肪酸合成酵素(FAS)の作用で、パルミチン酸まで合成される。パルミチン酸以降の鎖長の延長は、ミトコンドリアや小胞体で生じる。 $\beta$ 酸化の逆反応を利用して、マロニルCoAによって炭素鎖を2つずつ伸長する。脂肪酸の不飽和化は小胞体膜上の酵素で還元されることによって生じる。ただし、ヒトなどの高等動物には $\omega 3$ や $\omega 6$ に二重結合を作る酵素がないため、リノール酸や $\alpha$ リノレン酸は生合成できない。

#### 問6. 生体内における血圧調節の仕組みについて、ホルモンとミネラル再吸収の観点から説明しなさい。

●出題意図：ホルモンによる血圧調節は、血液を循環させる上で必要不可欠な仕組みであり、これには腎臓におけるミネラル吸収が関与している。この仕組みについての理解度を問う。

#### ●解答

生体内のNa<sup>+</sup>濃度は血圧調節と密接に関連しており、そのメカニズムとして、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系がある。血圧や血漿中のNa<sup>+</sup>濃度が低下すると、腎臓からレニンという酵素が分泌される。レニンは肝臓由来のアンギオテンシンノーゲンを分解してアンギオテンシンIにする。アンギオテンシンIは肺に存在するアンギオテンシン変換酵素によってさらに分解されてアンギオテンシンIIになる。アンギオテンシンIIは末梢血管を収縮させて血圧を上昇させるとともに、副腎皮質ホルモンの一種であるアルドステロンの分泌を誘導する。アルドステロンは腎臓の遠位尿細管におけるNa<sup>+</sup>再吸収を促すとともに、腎臓におけるK<sup>+</sup>の排泄を促進する。その結果、体内のNa<sup>+</sup>貯留量が増加し、体液量が増加することで血圧が上昇する。逆に、Na<sup>+</sup>濃度が増加すると、レニンの分泌が抑えられ、アンギオテンシンI、IIの産生が減少し、アルドステロンの分泌が抑制される結果、血圧が低下する。

問7. あるオリゴ糖シロップには水分が6.0%含まれ、また固形分中の95.0%がオリゴ糖であるという。このオリゴ糖シロップを水で希釈して、5.0%オリゴ糖溶液を500 mL作成するには、このシロップと水をどのように混合すればよいか。計算過程とともに示しなさい。また答えは四捨五入して小数第1位まで求めなさい。

●出題意図：食品栄養学に関連した実験を実施する上で必須の濃度計算に関する理解度を問う。

●解答

$$\text{式} : 500 * 0.05 * 100 / 94 * 100 / 95 = 27.99 \approx 28.0$$

答え：28.0 g のシロップを 500 mL 以下の水に混合しよく攪拌後、500 mL にメスアップする。

問8. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)とは、試料溶液中に含まれる目的のタンパク質を特異抗体で捕捉し、酵素反応を利用して検出・定量する方法である。以下の英文はあるタンパク質の定量のための ELISA キットに添付の手順である。このキットでは、既知濃度の標準試料を使って検量線を作成し、未知試料中の成分を定量する方法が用いられている。この手順を読んで、次の問題に答えなさい。

#### Assay Procedure:

1. Bring all reagents and 96 well plate to room temperature prior to use. A standard curve is required for each assay.
2. ① Prepare 500  $\mu$ L of the 1,000 pg/mL top standard by diluting 25  $\mu$ L of the standard stock solution in 475  $\mu$ L of Assay Buffer. Perform six two-fold serial dilutions of the 1,000 pg/mL top standard in separate tubes using Assay Buffer as the diluent. Assay Buffer serves as the zero standard (0 pg/mL).
3. ② Dilute the 20 $\times$ Wash Buffer to 1 $\times$  with deionized water.
4. Wash the plate 4 times with 300  $\mu$ L of 1 $\times$ Wash Buffer per well and blot any residual buffer by firmly tapping the plate upside down on absorbent paper. All subsequent washes should be performed similarly.
5. Add 50  $\mu$ L of Assay Buffer to each well that will contain either standard dilutions or samples.
6. Add 50  $\mu$ L of standard dilutions or samples to the appropriate wells.
7. Seal the plate with a Plate Sealer included in the kit and incubate the plate at room temperature for 2 hours while shaking at 200 rpm.
8. Discard the contents of the plate into a sink, then wash the plate 4 times with 1 $\times$ Wash Buffer as in step 4.
9. Add 100  $\mu$ L of Antibody solution to each well, seal the plate and incubate at room temperature for 1 hour while shaking.

10. Discard the contents of the plate into a sink, then wash the plate 4 times with 1×Wash Buffer as in step 4.
11. Add 100  $\mu$ L of Avidin-HRP solution to each well, seal the plate and incubate at room temperature for 30 minutes while shaking.
12. Discard the contents of the plate into a sink, then wash the plate 5 times with 1×Wash Buffer as in step 4. For this final wash, soak wells in 1×Wash Buffer for 30 seconds to 1 minute for each wash. This will help minimize background.
13. Add 100  $\mu$ L of Substrate Solution to each well and incubate for 15 minutes in the dark. Wells containing the target protein should turn blue in color with an intensity proportional to its concentration.
14. Stop the reaction by adding 100  $\mu$ L of Stop Solution to each well. The solution color should change from blue to yellow.
15. Read absorbance at 450 nm within 30 minutes.

●出題意図：食品栄養学に関連した実験でよく用いられる ELISA の英文プロトコールを題材に、その内容を読み解く英語力と測定サンプル数から実験に必要な試薬量を計算する力を問う。

(1) 下線①に関して、この手順では、検量線作成のための標準試料としてどのような濃度のものを作成するよう指示されているか。すべて答えなさい。

●解答

0, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500, 1000 pg/mL

(1000 pg/mL を top standard として、1/2 希釀で 6 段階作成があるので、1000 ~ 15.6 pg/mL まで作成する。また 0 pg/mL も必要である。)

(2) 下線②に関して、このキットを用いて濃度未知の 50 サンプル中の目的タンパク質を検出する場合、実験に必要な Wash buffer を調整するためには、最低何 mL の 20×Wash buffer が必要か計算しなさい。ただし、標準試料も未知試料も測定は 1 サンプルあたり 1 well での測定とし、実験過程での Wash buffer の損失はないものとする。

●解答

式:  $300 \mu\text{L} \times (4 \times 3 + 5) \text{回} \times (50 + 8) \text{ samples} = 295,800 \mu\text{L} = 295.8 \text{ mL}$

$$295.8 \text{ mL} / 20 = 14.79$$

答え : 14.79 mL

# 应用微生物学

## 模範解答

### 問1.

(1) ア : 焙煎 (焙燥)、イ : 麦芽、ウ : ホップ

(2) 酵素の名前 : グルカナーゼ

その役割 : 胚乳細胞壁の多糖を分解して粘性や濁りを防止する

ペプチダーゼでも正解

(3) 単行複式発酵

(4) 上面発酵ビール : エールビールと呼ばれ、酵母が液面に浮かぶ。発酵時間が短くフルーティーな香りが特徴。

下面発酵ビール : ラガービールと呼ばれ、発酵時間は長い。シャープな飲み口。主発酵の後、低温で貯蔵し後発酵する。

### 問2.

(1) ピルビン酸

(2) 1 mmol/L の NADH の吸光度が 6.3 なので、吸光度 1.0 の時の NADH の濃度は、  
 $1.0/6.3=0.159 \text{ (mM)}$

(3)  $0.159 \text{ mM}=0.159 \text{ mmol/L}$  なので、1 mL のキュベット中には  $0.159 \mu\text{mol}$  の NADH が存在。  
これが 30 分で生成したので、 $0.159/30=0.0053 \text{ U}$

(4)  $100 \mu\text{L}$  の粗酵素液に  $0.0053 \text{ U}$  があるので  $0.0053 \text{ U}/\text{mL}$ 。  
1 mL の粗酵素は  $1 \text{ mg}$  なので、 $0.0053 \text{ U}/\text{mg}$

### 問3.

(1) a と b : (ii)と(vi)、c と d : (iv)と(vii)

(2) e :  $\text{NH}_4^+$ 、f :  $\text{NO}_3^-$

(3) 化学合成独立栄養細菌のことで、無機物を電子供与体として酸化し、そこで得られたエネルギーを用いて炭酸固定して生育する。電子受容体も無機物であることが多い。硝化細菌、硫黄酸化細菌、鉄酸化細菌などがある。

(4) メタゲノム解析によって、アンモニア酸化と亜硝酸酸化を同時に行う *Nitrospira* 属細菌がいることがわかつってきた。未だ単離には至っていないが、ゲノム中にアンモニア酸化と亜硝酸酸化に必要な遺伝子を両方保持している。

### 問4.

(a) 清酒や醤油の醸造に用いられる麹菌。強いアミラーゼ活性を持ち、米や小麦のデンプンを糖化する。醤油醸造ではアミラーゼ活性のみならず、強いプロテアーゼ活性を有する株が用いられ、醤油の風味形成に貢献する。

- (b) グラム陽性の乳酸球菌でホモ乳酸発酵を行う。ヨーグルトの製造で *Lactobacillus bulgaricus* と共にスターターとして用いられる。*Lb. bulgaricus* とは共生関係にあり、アミノ酸など栄養分のやりとりをしている。
- (c) 青カビの一種で、フレミングにより抗生物質ペニシリンを作ることが発見された。ペニシリンは細菌のペプチドグリカンの側鎖架橋を阻害して、細菌を溶菌させる効果を持つ。
- (d) グラム陽性で絶対嫌気性の細菌で芽胞を形成する。致死率の高いボツリヌス毒素を生成し、食中毒の原因となる。辛子レンコンや地下水、自家製の飯寿司などが感染源となる。蜂蜜にも少量存在する。
- (e) グラム陰性のらせん菌で、強酸性の胃の中に生息する。ウレアーゼという酵素で尿素からアンモニアを生成し、自身の生育環境をアルカリ化する。疫学的調査等により、胃潰瘍や胃がんの原因であることがわかった。
- (f) 子囊菌類の一種で幅広い種の農作物に感染し、萎凋病や立ち枯れ病を引き起こす。植物の根から侵入し、導管部を褐変させる。このため水分や養分の転流が阻害されて生育不良、黄変、萎れ、枯死を引き起こす。

## 出題意図

- 問1. ビールの醸造に関して、その醸造工程、関与する酵素と微生物、製品の種類について基本的な事柄を理解できているかを問う。
- 問2. 酵素活性の測定法について、その原理（モル吸光係数の定義）、ユニットや比活性の算出方法について理解しているかを問う。
- 問3. 窒素循環で重要な硝化過程について、それに関与する微生物、それら微生物のエネルギー獲得方法、最近のメタゲノム解析で明らかになった知見等について、英文を読解できるか、また内容を理解しているかを問う。
- 問4. 微生物学で重要ないくつかの微生物について、その特徴を理解しているかを問う。

# 細胞生物学

## <解答例>

### 問 1.

#### (1) 順遺伝学

特徴のある表現型に着目し、その表現型の原因となる遺伝子を探る手法。化学薬剤や放射線を用いて変異原処理を行い、特徴ある変異体をスクリーニングし、その原因遺伝子を探ることで、遺伝子の機能を明らかにできる。

#### (2) アクチン繊維

単量体のアクチンが直鎖状、かつ、らせん状に重合して形成された繊維状構造。プラス端とマイナス端を持ち、その非対称性によって極性を持つ。束化、分岐、重合・脱重合によって、複雑なネットワークを形成する。モータータンパク質であるミオシンがアクチン繊維上を移動し、積み荷を運ぶ。

#### (3) 共免疫沈降法

対象とするタンパク質を含むサンプル溶液に、対象タンパク質を標的とする抗体を加えることで、対象タンパク質とそれに結合する因子を分離・精製する手法。相互作用因子の同定に用いられる。

#### (4) テルペン

炭素数 5 のイソプレンを最小単位とする物質の総称。炭素数 10 のモノテルペンや炭素数 20 のジテルペンなどが存在し、葉緑体や小胞体で合成される。テルペンが様々な修飾を受けることで、ステロールやアブシシン酸など、様々な物質が作られる。

#### (5) 葉緑体へのタンパク質輸送シグナル

葉緑体に運ばれるタンパク質の多くは、N 末端側に葉緑体トランジットペプチドと呼ばれるシグナル配列を持つ。これが葉緑体の TOC 複合体に認識され、TIC 複合体と連携して、ストロマへとペプチドを送り込む。その過程でトランジットペプチドは切断される。

#### (6) SNARE 複合体

小胞と標的膜の融合の際に、小胞側の v-SNARE と標的膜側の t-SNARE が結合することにより、膜同士の接着および融合を補助する。特定の SNARE 同士のみが結合する特異性があることにより、小胞が正しい標的膜に融合することができる。

#### (7) 脂肪酸の $\beta$ 酸化

脂肪酸の主要な分解経路であり、脂肪酸を炭素数 2 ずつ切り出してアセチル CoA をつくり出す反応。動物ではミトコンドリア、植物ではグリオキシソームで起こる。作られたアセチル CoA はグリオキシル酸回路に入り、その後の糖新生などへと利用される。

### 問 2

オレイン酸の化学式は  $C_{18}H_{34}O_2$ 、コレステロールの化学式は  $C_{27}H_{46}O$  であるため、この 2 つがエステル結合した OCE は、水分子が一つ抜けるため、 $C_{45}H_{78}O_2$  となる。

各元素の原子量は、C: 12、H: 1、O: 16 であるため、

$$12 \times 45 + 1 \times 78 + 16 \times 2 = 650$$

よって分子量は 650 である。

50 mg の OCE (分子量 650) を、250  $\mu$ L のクロロホルムに溶解したので、計算式は以下のようになる。

$$50 \text{ mg} = 5 \times 10^{-2} \text{ g}$$

$$250 \mu\text{L} = 2.5 \times 10^{-1} \text{ mL} = 2.5 \times 10^{-4} \text{ L}$$

$$5 \times 10^{-2} \text{ g} \div (2.5 \times 10^{-4} \text{ L} \times 650 \text{ g/mol}) = 0.3076 \dots \text{ mol/L (M)} = 307.6 \dots \text{ mM}$$

よって、308 mM (3.08  $\times 10^2$  mM)

### 問 3

・種子の脂質合成を正に制御する転写因子 WRINKLED1 (WRI1) を対象とする。WRI1 が葉で過剰発現されると、葉にトリアシルグリセロールが多く蓄積されることが知られている。WRI1 を植物の葉で過剰発現する (CaMV35S プロモーターを使用) ためのプラスミドベクターを作製し、植物に形質転換することで、葉での脂質増産を行う。

・葉での脂質合成を負に制御する LIPID RICH 1 (LIRI1) を対象とする。LIRI1 を欠損したシロイヌナズナでは、葉にトリアシルグリセロールが高蓄積することが知られている。対象とする作物で、ゲノム編集技術を用いて *LIRI1* 遺伝子をノックアウトし、葉での脂質増産を行う。

### 問 4

小胞体シグナルペプチドを持つタンパク質がリボソームで翻訳される時、小胞体シグナルペプチド部分が翻訳された時点で、シグナル認識粒子 (SRP) に認識される。すると翻訳が停止し、SRP はリボソームごと、小胞体膜に存在する SRP 受容体に運ばれ、複合体を形成する。さらにそこにトランスロコンが結合すると、SRP と SRP 受容体は解離し、翻訳が再開される。小胞体シグナルペプチドがトランスロコン内に残る形で翻訳が進むと、ペプチド鎖は小胞体内腔に押し出されていく。すべての翻訳が完了したのち、シグナルペプチダーゼが小胞体シグナルペプチドを切断し、残りのペプチド鎖が小胞体内腔に切り出されて、移行が完了する。

### 問 5

(1)

まず、変異体 *a*において、遺伝子 *X*がコードするタンパク質は、32 番目のアミノ酸であるグルタミンが、終止コドンに変わっている。このため、非常に短いタンパク質が出来てしまうことで、遺伝子 *X*がコードするタンパク質の機能が失われている可能性が高い。

一方、変異体 *a*において、遺伝子 *Y*がコードするタンパク質は、塩基置換が起こっているものの、53 番目のアラニンはアラニンのままの同義置換であるため、遺伝子 *Y*がコードするタンパク質の機能は野生型と同じである可能性が高い。

よって、原因遺伝子は遺伝子 *X*であるとして、さらなる検証実験を行う。

遺伝子 *X*に変異を持つ、別の変異体アリルを作製するために、ゲノム編集による変異体作製を行う。CRISPR/Cas9 システムにより、遺伝子 *X*を対象としたガイド RNA を持つプラスミドベクターを作製し、これらのベクターをシロイヌナズナ野生型に導入する。次世代において、遺伝子 *X*に変異を持つ個体の選抜を行う。この変異体が変異体 *a*と同じ表現型を示すかを検証する。

(別解：変異体アリル作製の部分については、以下の解答でも構わない) 変異体 *a*に正常な遺伝子 *X*を導入することで、変異体 *a*の表現型が野生型に戻るかを確かめる。野生型のゲノム DNA を鋳型に

して、遺伝子  $X$  のプロモーターから、タンパク質コード領域、さらにターミネーターまでの領域をクローニングし、発現ベクターに導入する。これを変異体  $\alpha$  に形質転換し、相補株を作製する。この相補株が野生型と同じ表現型を示すかを検証する。

(2)

(1) で原因遺伝子は遺伝子  $X$  と予想されるため、遺伝子  $X$  についてのみ検証する。

遺伝子  $X$  がコードする転写因子の機能としては、熱処理により誘導され、脂質合成、特に TAG 合成を正に制御する転写因子であることが考えられる。この転写因子の下流には、TAG 合成に関わる DGAT や PDAT の遺伝子が存在し、熱処理により DGAT や PDAT の発現を増やすことで、TAG 合成が誘導され、TAG を蓄積する油滴も誘導されると考えられる。変異体  $\alpha$  では、この転写因子の機能が失われることで、熱処理時に TAG 合成が誘導されず、油滴も誘導されなくなったと考えられる。

<出題意図>

本問では、応用生命科学領域における細胞生物学およびそれに関連する学問分野の研究に関して、大学院での高度な学修および研究を進める上で求められる能力を、総合的に測ることを目的としている。一般的な教科書における基礎知識に加えて、実験データの読み取りや、そこから考えられる仮説、さらにそれを実証するための手段を考える能力が備わっているかを問う。

問1.

大学院での研究において必要な科学用語の意味を、正確に記述できるかを問う。

問2.

化合物の分子量計算や、モル濃度計算を正確に行えるかを問う。

問3.

脂質合成経路を理解したうえで、脂質増産に向けての具体的かつ斬新なアイデアを生み出すことができるかを問う。

問4.

小胞体シグナルペプチドが小胞体内腔に入るまでの過程について、ransportコンやシグナル認識粒子の働きを含めて、適切に説明できるかを問う。

問5.

変異体におけるアミノ酸置換において、タンパク質にどのような違いが現れるかを具体的に説明できるかを問う。また、変異体の原因遺伝子の同定において、相補実験やアリルを用いた実験を適切に説明できるかを問う。さらに、未知の転写因子の機能について、脂質代謝経路を説明しながら、油滴誘導にどのように関わるかについて、論理的な予測ができるかを問う。