

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 1 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|-------------------|---------------------|---------|-----|
| 分子微生物学 (分子生物学) | 分子微生物 専攻 博士前期 課程 | | |

【問題 1】以下の文章を読んで問 1～3 に解答しなさい。

修士 1 年生の M 君は分子量約 58kDa のヒトの (ア) アミラーゼ を大腸菌で作らせることにした。このタンパク質をコードする遺伝子を、(イ) プロモーター、(ウ) SD 配列、及びターミネーターなどを含むように増幅するべく、既に明らかになっている開始コドン、及び終始コドンの、それぞれ上流、及び下流 1kbp の位置に (エ) プライマー を設計した。ヒト染色体 DNA を鋳型に (オ) PCR 用酵素 を用いて増幅を行い、目的とする遺伝子の DNA 断片を取得することに成功した。得られた DNA のサイズは約 11kbp と、アミラーゼの分子量から予想されるサイズよりもかなり大きかった。この DNA 断片を、PCR に用いたプライマーにその認識配列を付加しておいた (カ) 制限酵素 で切断し、(キ) DNA リガーゼ を用いて大腸菌で複製・保持されるプラスミドに組み込んだ後、大腸菌に導入し、(ク) アンピシリン を含む寒天培地にて形質転換体を選択した。得られた形質転換体からプラスミドを回収し、挿入された配列を解読した結果、目的遺伝子が変異もなく単離できたことが確認できた。この大腸菌体から全タンパク質を抽出し、アミラーゼに対する (ケ) 抗体 を用いて調べたところ、(コ) 目的のタンパク質は全く作られていなかった。

問 1 下線 (ア)、(イ)、(ウ)、(エ)、(オ)、(カ)、(キ)、(ク) は、それぞれ本来、細胞内でどのような生体反応に働いているか。最も適当なものを選択肢より番号で選択せよ。

< 選択肢 >

- ① 転写 ② 複製 ③ 翻訳 ④ 細胞分裂 ⑤ 細胞壁合成 ⑥ ①～⑤以外

問 2 下線 (A) の抗生物質の作用機構について、簡潔に説明せよ。

問 3 下線 (B) に関して、本実験のデザインには二つの問題点があると考えられ、どちらか片方でも目的のタンパク質は発現しないと考えられる。この二つの問題点として考えられることを、ヒトと大腸菌の遺伝子の構造、及びその発現の仕組みに基づいて簡潔に説明せよ。

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 1 期

| | | | |
|-------------------|---------------------|---------|-----|
| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
| 分子微生物学 (分子生物学) | 分子微生物 専攻 博士前期 課程 | | |

【問題 2】以下の問 1、2 に解答しなさい。

問 1 ある微生物に外的ストレスを加えた際に起こる mRNA、及びタンパク質の変動について解析を行う。個別の因子について調べる場合と、多数の因子について網羅的に調べる場合について、それぞれ適当な手法を二種類挙げて、下の表を完成させよ。

| | 網羅的解析 | 個別の因子の解析 |
|----------|--|--|
| mRNA の変動 | <ul style="list-style-type: none"> ・ (ア) ・ (イ) | <ul style="list-style-type: none"> ・ (ウ) ・ (エ) |
| タンパク質の変動 | <ul style="list-style-type: none"> ・ 二次元電気泳動 ・ LC/MS | <ul style="list-style-type: none"> ・ (オ) ・ (カ) |

(アとイ、ウとエ、カとキ、はそれぞれ順不同)

また、個別の mRNA の変動を解析する①半定量的で定性的な側面が強い方法、②定量性が高い方法、そして個別のタンパク質の変動を解析する③半定量的で定性的な側面が強い方法、④定量性が高い方法をそれぞれ一つ答えなさい。(※表中ウ、エ、オ、カに回答した方法と重複可)

問 2 マウスの腸管に発現するタンパク質 Z0-1 について腸炎誘導処理の有無で発現がどのように変わるとの調べたい。次の操作の中で間違えがある工程を一つ指摘し、その工程を選んだ理由と、それをどのように正せばよいか答えなさい。

1. 腸管からタンパク質を抽出し、SDS-PAGE に供する。
2. SDS-PAGE 後のゲル中のタンパク質をブロッティング装置で PVDF 等の膜に転写する。
3. 転写後の膜をスキムミルク溶液でブロッキングする。
4. 一次抗体にウサギで作った抗マウス Z0-1 ポリクローナル抗体を用い、ブロッキング後の膜に対して一次抗体反応を行う。
5. 一次抗体反応後の膜をバッファーでよく洗浄し、二次抗体に抗マウス IgG 抗体-HRP を用い、洗浄後の膜に対して二次抗体反応を行う。
6. 二次抗体反応後の膜をバッファーでよく洗浄し、HRP の酵素反応を利用し Z0-1 タンパク質のバンドを可視化する。

・ 間違えのある工程 → _____

・ その工程を選んだ理由と、それをどのように正せばよいか

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 1 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|------------------|----------------------|---------|-----|
| 分子微生物学 (微生物学) | 分子微生物学 専攻 博士前期 課程 | | |

1. 以下の文章の①～⑩に当てはまる用語を記入せよ。2x10=20 点

細菌は独立生活を営む単細胞生物である。1 個の染色体があるが、(①) があってその中におさめられているわけではない。細菌類の中でこれまで分子生物学の分野で最も役に立ってきたのは大腸菌である。大腸菌は (②) 培地または固体の表面上で生育できる。適当な培地を用いて細菌を生育させることを (③) という。糖のような炭素源以外には有機化合物を含まない単純な組成の培地を (④) 培地と呼び、代表的な (④) 培地には、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 HPO_4^{2-} 、 SO_4^{2-} の各イオンと、グルコース、グリセロールまたは乳酸塩のような炭素源が含まれる。我が国では料理にも広く用いられている (⑤) はテングサなどから得られるゲル化剤であるが、細菌の酵素におかされないので、固型培地の作製に用いられるようになった。細菌は生長するにつれて (⑤) の表面で分裂するが、固体の表面ではあまり運動性がないので、その子孫は最初に親が居た場所の近くにとどまる。子孫は増加して膨大な数になり、細菌の集団が目に見えるようになる。この集団を細菌の (⑥) と呼ぶ。(⑥) 形成によって我々は、(③) 液中の細菌の数を測定することができる。

真核細胞では、生命過程にエネルギーを供給する (⑦) の大半が、膜で囲まれた特定のエネルギー変換用小器官で作られる。このような小器官は 2 種類存在する。1 つは (⑧) で、動物、植物、菌類の全細胞にあり、食物の分子を燃やして (⑨) 的リン酸化により (⑦) を生産する。もう 1 つは (⑩) で、植物と藻類に存在し、太陽エネルギーを補足して光合成により (⑦) を生産する。現在の真核生物に存在するエネルギー変換小器官は、真核生物の進化の過程でエンドサイトーシスによって取り込まれた原核生物の細胞から生じたことが、DNA 塩基配列の比較によって示されている。

2. 細菌の増殖について、() 内の 1～3 に当てはまる用語を記入し、設問に答えなさい。2x3=6 点

細菌の生育には様々な物理化学的条件が影響する。例えば細菌は種類に応じて酸素に対する異なる挙動を示し、この挙動の差は分類学上の重要な指標の 1 つに採用されている。温度も同様で、至適増殖温度は種類に応じて異なり、 10°C 付近に至適生育温度を持つ細菌は (1:) と呼ばれる。細菌の生育に影響を与える他の物理化学的な条件としては (2:) などが挙げられる。

フラスコなど閉鎖系で細菌を培養した際に観察される増殖は、典型的な増殖曲線を示す。増殖曲線は 4 つのフェーズ (期) に区別され、一般的な抗生物質生産や孢子形成は (3:) 期に入った頃から開始することが知られている。

2-1: 文中の下線部に関して、細菌分類学上の代表的な区分を 3 つ書きなさい。6 点

2-2: 文中の二重下線部に関して、図に増殖曲線を書き、かつ 4 つのフェーズ (期) を書きなさい。また 4 つのフェーズ (期) の特徴を、それぞれについて説明しなさい。6 点

3. 下記の括弧に適切な語句を入れなさい。2x6=12 点

- 1) バイオハザードの観点から研究施設の格付けに使用される BSL とは () の略である。
- 2) 細菌の芽胞を高圧蒸気滅菌法で滅菌するための条件は、() $^\circ\text{C}$ () 分以上) と定義される。
- 3) 北里柴三郎は () 研究室に留学し、そこで嫌気培養装置を開発して () 菌を単離した。
- 4) 1 つの独立したコロニーが持つ特徴について、知るところを説明しなさい。
- 5) 細菌の系統分類を行う際に最も広く使用される遺伝子は () 遺伝子の塩基配列である。

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 1 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|------------------|----------------------|---------|-----|
| 分子微生物学 (生物化学) | 分子微生物学 専攻 博士前期 課程 | | |

問 1. 真核生物と原核生物の共通部分、相違部分を器官、構造などの点から説明しなさい (15)。

問 2. タンパク質の機能について 5 種類以上挙げなさい (10)。

問 3. 脂肪酸酸化による ATP 合成について、 β 酸化、長鎖脂肪酸、アセチル CoA、電子、酸化的リン酸化、という言葉を使って説明しなさい (15)。

問 4. 酵素の特徴について、酵素、基質、触媒、活性化エネルギー、という言葉を使って説明しなさい (10)。

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 2 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|-------------------|----------------------|---------|-----|
| 分子微生物学 (分子生物学) | 分子微生物学 専攻 博士前期 課程 | | |

【問題 1】以下の文章を読んで問 1~4 に回答せよ。

真核生物において遺伝子の転写を担う RNA ポリメラーゼには RNA ポリメラーゼ I、II、III の 3 種類がある。RNA ポリメラーゼ I は、細胞内に最も多く含まれる (ア) を転写する。RNA ポリメラーゼ II は、最も多様な遺伝子を対象に、その遺伝情報を (イ) として読み出す。RNA ポリメラーゼ III は、(ア) の一部に加え、主に (ウ) と呼ばれる小分子 RNA の合成を担っている。(ウ) は、翻訳反応において (イ) のヌクレオチドの並びを (エ) の並びへと変換するアダプターとしての役割を担っている。それぞれの RNA ポリメラーゼは、遺伝子の近傍に存在する (オ) と呼ばれる領域に結合し、転写を開始するが、それぞれ単独では (オ) を認識することができないため、(カ) と呼ばれる一群のタンパク質因子が (オ) を認識して結合し、それぞれの RNA ポリメラーゼの働きを助けている。一方、原核生物で最も研究が進んでいる大腸菌では、上記 3 つの転写反応を 1 種類の RNA ポリメラーゼが行っている。大腸菌においては、転写開始点の -10 塩基、及び -35 塩基上流付近に保存された配列を、RNA ポリメラーゼのサブユニットである (キ) が認識することで、RNA ポリメラーゼが転写を開始するのを助けている。上記以外にも、(ク) DNA を鋳型に RNA を合成する酵素が存在し、DNA の複製反応において重要な機能を果たしている。

問 1 上記文章の空欄 (ア) ~ (キ) に当てはまる語句を以下の選択肢より選択せよ。

- ① mRNA ② tRNA ③ rRNA ④ siRNA ⑤ シグマ因子 (σ 因子) ⑥ 複製開始点 (ori)
⑦ ターミネーター ⑧ プロモーター ⑨ 基本転写因子 ⑩ アミノ酸

問 2 真核生物の (イ) は、その成熟過程において、5' 末端、及び 3' 末端の修飾、及び内部配列の切断と再結合を伴う加工が起こる。それらの修飾、加工の名称を答えよ。

問 3 (ア) ~ (ウ) のうち、それ自身が触媒活性を持つものを (ア) ~ (ウ) のうちから選択せよ。

問 4 下線部 (ク) について、(I) 酵素の名称 と (II) その役割 について説明せよ。

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 2 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|-------------------|----------------------|---------|-----|
| 分子微生物学 (分子生物学) | 分子微生物学 専攻 博士前期 課程 | | |

【問題 2】以下の文章の空欄（ア）～（ケ）に当てはまる語句を以下の選択肢より選択せよ。

二次元電気泳動法は、タンパク質の（ア）、及び（イ）の違いに基づく二種類の異なる分離方法により検体中のタンパク質を分離する手法であり、細胞の全タンパク質をスポットとして分離できる。（ア）による分離では、pH 勾配を持つゲルを用いる。（イ）による分離では、SDS-PAGE と同様に（ウ）ゲルを用いて、変性状態のタンパク質の泳動を行う。薬剤やストレスなどの処置を施した細胞と未処置の細胞を検体とし、両者の二次元電気泳動のスポットを比較することにより、細胞中のタンパク質の発現量の変動を調べることができる。その際は二次元電気泳動にアプライする検体中のタンパク質の濃度を（エ）などで測定し、比較したい検体間でタンパク質のアプライ量を揃えるようにする。また二次元電気泳動で分離されたタンパク質のスポットをゲルから切り出し、（オ）などの解析により、タンパク質の種類を同定することができる。上記のような解析を始めとするタンパク質の網羅的な解析を（カ）と呼ぶ。

タンパク質の翻訳後修飾を調べる際には、（オ）の他に、リン酸化等の修飾タンパク質に対する特異的抗体を用いた（キ）や（ク）なども有効な手法である。

目的タンパク質の発現量の変化を（キ）で定量的に解析する際には、補正のためのコントロールとして、培養条件の違いによる発現の変動が（ケ）ことが分かっているハウスキーピングタンパク質もあわせて解析することが望ましい。

- ①ゲノム解析 ②アガロース ③ウエスタンブロットティング (or イムノブロットティング)
④プロテオーム解析 ⑤等電点 ⑥サンガー法 ⑦N 末端アミノ酸シーケンス
⑧質量分析 ⑨ELISA 法 ⑩分子量 ⑪ブラッドフォード法 ⑫ポリアクリルアミド
⑬ノザンブロットティング ⑭大きい ⑮小さい

【問題 3】以下の文章を読んで問 1～2 に回答しなさい。

ともに長さ 1,000 bp 程度の配列の異なる遺伝子断片 A、B に対して、それぞれ酵素 X を反応させた。反応後の溶液をアガロースゲルを用いて電気泳動したところ、A は 1,000 bp のサイズにバンドが一本検出されたのに対し、B は 500 bp 以下のサイズにバンドが三本検出された。

問 1 酵素 X はどのような性質を持つ酵素か。酵素の一般名称と、その働きについて答えなさい。

問 2 遺伝子断片 A に酵素 X が反応した後も、断片のサイズに変化がなかった理由として、考えられることを答えなさい。

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 2 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|------------------|----------------------|---------|-----|
| 分子微生物学 (微生物学) | 分子微生物学 専攻 博士前期 課程 | | |

問題 1. 以下の文章の①～⑩に当てはまる用語を記入せよ。

1950 年代に、動植物細胞が核を持つのに対して細菌にははっきりした核構造がないなど、両者の細胞構造の間には違いがあることが明らかになり、生物界を (①) と (②) に二分する考えが成立した。現在では、生物界は (②) である細菌と (③)、および (①) の 3 つの (④) からなると考えられている。

(⑤) の (⑥) の際に起こる (⑥) のミス、紫外線、放射線、熱による (⑤) の損傷、トランスポゾンの転移によって引き起こされる (⑤) の塩基配列の変化のことを突然 (⑦) とよぶ。ゲノム内には、進化の途上でほかの部分よりも変わりやすい (⑤) 領域がある。これらの (⑤) 領域は細胞の生存に必須のタンパク質をコードしておらず、重要な調節機能ももたないため、(⑦) しやすい。

タンパク質合成装置である (⑧) は大小 2 つのサブユニットからなる巨大な (⑨) -タンパク質複合体である。(⑧) を構成する (⑨) は、(⑧) (⑨) と呼ばれる。(⑧) (⑨) は進化的に極めて (⑦) しにくい分子と考えられており、(⑧) (⑨) の遺伝子や、細胞の生存に必須のタンパク質をコードする遺伝子の塩基配列はよく保存されている。系統樹の中で最も遠い関係にある生物間の類縁関係をたどるには、こうしたよく保存された遺伝子の塩基配列情報を調べるのがよい。生物界を細菌、(③)、(①) という 3 つの (④) に分類した最初の研究は、(⑧) (⑨) の塩基配列の解析に基づいている。(⑨) からタンパク質への (⑩) はどの細胞にとっても不可欠なので、(⑧) を構成する (⑨) は、地球上の生命の歴史の初期からとてもよく保存されている。

問題 2. 細菌の増殖について、() 内の 1～3 に当てはまる用語を記入し、設問に答えなさい。

細菌の生育には様々な物理化学的条件が影響する。例えば細菌は種類に応じて グラム染色 に対する異なる挙動を示し、この挙動の差は分類学上の重要な指標の 1 つに採用されている。また至適増殖温度は種類に応じて異なり、80℃付近に至適生育温度を持つ細菌は (1:) と呼ばれる。細菌の生育に影響を与える他の物理化学的条件としては塩濃度や pH の他に (2:) などが挙げられる。

フラスコなど閉鎖系で細菌を培養した際に観察される増殖は、典型的な 増殖曲線 を示す。増殖曲線は 4 つのフェーズ (期) に区別され、一般的な抗生物質生産や孢子形成は (3:) 期に入った頃から開始することが知られている。

2-1: 文中の 下線部 に関して、細菌分類学上の代表的な区分を 2 つ書きなさい。

2-2: 文中の 二重下線部 に関して、図に増殖曲線を書き、かつ 4 つのフェーズ (期) を書きなさい。また 4 つのフェーズ (期) の特徴を、それぞれについて説明しなさい。

問題 3. 下記の括弧に適切な語句を入れなさい。

- 1) バイオハザードの観点から研究施設の格付けに使用される BSL とは () の略である。
- 2) 細菌の芽胞を蒸気を使わないで滅菌する方法を 3 つ挙げなさい () () ()
- 3) パスツールは () の形をした特殊なフラスコを使用して、() 説の否定に成功した。
- 4) 微生物の糖資化性とは (文章で説明:) のことである。
- 5) 真核生物の系統分類を行う際に最も広く使われる遺伝子は () 遺伝子の塩基配列である。

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 2 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|------------------|----------------------|---------|-----|
| 分子微生物学 (生物化学) | 分子微生物学 専攻 博士前期 課程 | | |

問 1. タンパク質の立体構造について各種結合（または会合）に関する用語を用いて説明しなさい。
(15 点)

問 2. デンプンについて具体的な構成成分（高分子体 2 種）と最小単位糖および結合様式を説明しなさい。(10 点)

問 3. グルコースの分解経路について、嫌気的および好気的な環境ではそれぞれどのように代謝されるか説明しなさい。(15 点)

問 4. 補因子について、その分類と役割を説明しなさい。(10 点)

大学院入学試験問題用紙

2023 年度 2 期

| 科 目 名 | 受 験 専 攻 | 受 験 番 号 | 氏 名 |
|-------|----------------------|---------|-----|
| 資源生物学 | 分子微生物学 専攻 博士後期 課程 | | |

問題

生命科学分野の研究手法として、次の問 1～問 3 の中から 2 つ選択し、問題番号を記載し解答しなさい。

[問 1] 微生物のタンパク質を精製する技術を挙げ、精製したタンパク質のタンパク科学的な諸性質を説明する方法について、知るところを説明しなさい。

[問 2] 微生物（原核、真核）の分類学上の系統関係を解析する方法として、知るところを説明しなさい。

[問 3] 活性酸素種について、その特徴、ならびに防御酵素について、知るところを述べなさい。