

科目記号	科目名
I	海洋生物工学

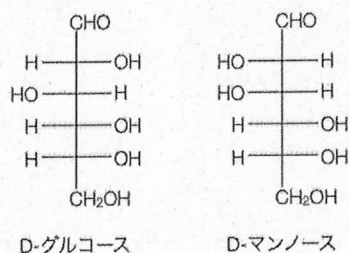
解答（解答例）・出題の意図

出題内容：海洋生物工学

出題番号 271

【解答例】

(1) 化合物の組み合わせ例：D-グルコースとD-マンノース



(2) 正しい選択肢：(ア)

ゲルろ過クロマトグラフィーでは、分子量が大きいタンパク質はゲルの細孔に入りにくく、速やかに通過して早く溶出する。一方、小さいタンパク質は細孔内に入り、移動時間が長くなるため遅く溶出する。SDS-ポリアクリルアミド電気泳動では、SDS がタンパク質を変性させ、均一な負電荷を付与する。分子量が小さいタンパク質が細孔を速く通過し、ゲルの下方に先に移動する。一方、大きいタンパク質は移動が遅くなる。

(3) エゾアワビのアルギン酸分解酵素のチロシン残基の触媒活性への関与を検証するため、チロシンをアラニンまたはフェニルアラニンに置換した点変異酵素を作製し、野生型と活性を比較する。まず初めに、当該 cDNA を鋳型として PCR 法により変異を導入する。すなわち、チロシン残基のコード領域に点変異を導入するプライマーを設計し、チロシンをアラニン（側鎖が小さく、触媒機能の影響評価に適する）またはフェニルアラニン（チロシンのヒドロキシル基の有用性を検証）に置換する。次に、発現ベクターを構築する。増幅した cDNA を環状 DNA である発現プラスミドに組む。プラスミドの T7 プロモーターの下流に目的の DNA をライゲーションし、ホストとして大腸菌を用いる。組換えプラスミドは、DNA シーケンシングにより変異の正確性を確認する。プロモーターの制御下で野生型および変異型酵素を発現し、クロマトグラフィーで精製する。例えば、His タグを用いたニッケル親和性クロマトグラフィーで粗精製後、ゲルろ過クロマトグラフィーで組換え酵素を精製する。純度については、SDS-PAGE で調べる。酵素の性状は、精製した野生型および各変異体を用いて、アルギン酸分解活性を測定することで評価する。アルギン酸を基質とし、還元糖生成量を分光光度法で測定する。チロシンが触媒活性に重要であれば、変異体は活性が大きく低下する。活性に変化が無ければ、着目したチロシン残基は触媒活性には関与しない可能性が高いと推察される。

【出題の意図】

(1) 基本的な糖質の一つであるアルドヘキソースの立体化学とエピマーの概念を理解し、フィッシャー投影式で構造を表現できるかを評価する。

(2) タンパク質分離手法の原理と変性条件の影響を理解し、分子量に基づく挙動の違いを説明できるかを評価する。

(3) 遺伝子工学とタンパク質解析の技術を統合し、酵素の機能解析実験を設計できるかを評価する。

出題番号 272**【解答例】**

(1) プロテアーゼの N 末端のアミノ酸がメチオニンではない理由は、翻訳後修飾による N 末端メチオニンの切除、分泌シグナルペプチドの切断、およびプロテアーゼの活性化プロセッシングによる N 末端の変化などが主たる要因と考えられる。これらの複数の要因について適切に述べられていることが求められる。

(2) スブチリシンやキモトリプシンがセリンプロテアーゼと呼ばれる理由は、触媒活性中心のセリン残基のヒドロキシル基 (-OH) が、基質のペプチド結合の加水分解に直接関与するため。

(3) 残基 A : D / 残基 B : H / 残基 C : S

(4) 残基 A : セリンの -OH は、残基 B のイミダゾール環によりプロトンが引き抜かれ、酸素アニオン (O^-) となり求核性が向上する。残基 C は残基 B を水素結合で安定化し、プロトン移動を助ける。求核攻撃のメカニズムは、以下のとおりである。活性化したセリンの酸素アニオンが基質のカルボニル炭素に攻撃し、四面体中間体を形成する。この中間体はアシル酵素中間体に進行し、ペプチド結合が切断される。

【出題の意図】

(1) タンパク質生合成の基本（開始コドンとメチオニン）を理解しているか。翻訳後修飾という概念、特にシグナルペプチドや N 末端メチオニンの切除について知っているか。プロテアーゼの多くが、自己消化や周囲のタンパク質の意図しない分解を防ぐために、不活性な前駆体として合成され、限定分解によって活性化されるという調節機構を理解しているか。これらの複数の要因が、プロテアーゼの N 末端がメチオニンでない理由であることを論理的に説明できるかを評価する。

(2) ~ (4) 代表的な酵素の一つであるタンパク質分解酵素を対象とした基本的知識を問う。さらに、「求核攻撃」という化学反応の原理（電子豊富な化学種が電子不足な部位を攻撃する）と、酵素がいかにしてアミノ酸側鎖の化学的性質を変化させて反応性の高い状態を作り出すのかを、構造と関連付けて論理的に説明できるかを評価する。

出題内容：海洋微生物学**出題番号 281****【解答例】**

(1) *ftsZ* 遺伝子は細菌細胞の分裂に関与するタンパク質をコードする。細菌学分野ではよく知られている遺伝子の一つである。そのタンパク質は細胞分裂面にリング状に配置され、GTP 加水分解活性を示すことで、分裂に関与することが知られている。今回の遺伝子検索に利用された塩基配列の長さは図中の Query Length から解答を得ることができる。

(2) 遺伝子検索に用いられたアルゴリズムは図中の Program から解答を得られる。用いられたアルゴリズムは、検索する塩基配列に類似した配列を、塩基配列データベースの中から検索する。

(3) E value は検索された配列以外のものが見つかる期待値を示し、0 の場合、検索された配列以外の配列が見つかる可能性は極めて低いことを示す。Per. Ident は、検索する配列と検索された配列の類似度を示す。今回の遺伝子検索の結果から、HK 株に類似性が高い細菌種は図中の Description および Scientific Name の情報から解答を得られる。

なお、FtsZ の発見の経緯や生物機能、遺伝子情報検索アルゴリズムの原理、類似性検索結果の解釈などについて述べる必要もある。

【出題の意図】

海洋生物工学の研究分野では、遺伝子配列に基づく情報検索は必須の方法論の一つである。海洋微生物の遺伝子検索を例に、その知見を問う問題を出題した。

出題番号 282

【解答例】

- (1) LPS はリポ多糖を意味し、細菌細胞の外膜の構成成分の一種である。内毒素の活性を有する。
- (2) Symbiosis は共生のことである。定義は研究者により定まっていないが、de Bary は、異なる生物が共に生活することおよびその関係性が永続的であることと定義している。
- (3) 細菌は培養が困難なものが多いことから、魚類の各器官から核酸を抽出・定量し、各器官に生きている細菌が存在する可能性を調べた。さらに、様々な培地や培養条件を用いて細菌の培養を行った。
- (4) gut-brain axis は腸脳相関を意味し、腸と脳の神経系や液性因子を介した双方向性の関係を示す。これには腸内細菌の関与も指摘されている。

なお、LPS の化学構造や生物活性の誘導機構、海洋微生物学における共生の事例、培養を介さずに行う内臓から微生物を検出する際のコンタミネーションを防ぐ方法論および様々な培地を用いる方法論などについて述べる必要もある。

【出題の意図】

大学院において、海洋生物工学の研究を進めるにあたり、最新の知見を収集し、自身の研究に還元しながら、その質を高めることは常に求められる。魚類と微生物の相互作用に関する新たな研究成果を例に、その能力を問う問題を出題した。

出題内容：魚病学

出題番号 301

【解答例】

IHN の発症は、複数の環境的・生理的要因が複合的に関与する。まず、宿主魚の年齢に関しては、サケ科魚類の稚魚や幼魚が最も感受性が高いことが知られており、免疫系が未発達な段階ではウイルス複製を効果的に制御できず、致死率が高くなる。一方、成魚では感染しても発症しにくく、不顕性感染の形でウイルスを保持することがある。

水温も IHN の発症に大きく影響する。8～14℃付近がウイルスの増殖に最適な温度帯とされ、特に水温がこの範囲に達したタイミングで感受性の高い年齢群が存在すると、集団内で急速に感染・発症が進む可能性がある。

飼育密度が高い場合には、魚体間の接触頻度が増すとともに、ストレスや水質悪化を引き起こしやすくなり、免疫抑制状態を誘発するため、発症リスクが高まる。さらに、給餌設備や作業用具などの共有も、ウイルス伝播の媒介要因となり得る。

これらの要因を踏まえた現場での予防管理策として、以下の対策が考えられる。まず、感受性の高い稚魚期はウイルスフリーの飼育用水を用いて隔離飼育を行う。幼魚期以降も、飼育密度を適切に制限し、ストレスを抑えるとともに、水槽間の隔離や作業動線の分離を行うことで水平感染を予防する。さらに、IHN ウイルス陰性の親魚由来の卵を使用することや洗卵・卵消毒を行うことで、垂直感染の制御にも努める必要がある。

【出題の意図】

本設問は、伝染性造血器壊死症（IHN）を題材として、魚類感染症に関する専門的知識だけでなく、病原体・宿主・環境要因の相互関係を論理的に整理・説明する力を評価することを目的とする。さらに、現場で生じる課題に対して科学的視点から多面的にアプローチし、適切な対応策を構想できるかを問うことで、大学院レベルの研究能力の基礎となる課題設定力・思考力・表現力を測ることを意図している。

出題番号 302

【解答例】

（１） 硬骨魚類では、IgM, IgD, IgT（別名 IgZ）が存在するが、哺乳類では IgM, IgD, IgG, IgA, IgE が存在する。

（２） 硬骨魚類は恒温動物である哺乳類とは異なり、変温動物で水域に生息する。このことから、硬骨魚類の生体防御能や外来病原体の増殖は環境水温による影響を強く受ける。また、硬骨魚類は、体表、消化管、鰓など外環境との境界が粘液組織によって覆われており、生体防御において重要な働きを担う。粘液組織には、IgM や IgT/IgZ クラスの抗体が粘液中に分泌されている。

哺乳類においては、外来の病原体等に由来する抗原刺激に応じて、IgM/IgD による応答から IgG, IgA あるいは IgA へと変化するクラススイッチが起こり、これらの抗体が生体防御を担う。一方硬骨魚類では、IgM を産生する B 細胞と IgT/IgZ を産生する B 細胞は異なる系統として体内に存在しており、クラススイッチしないという特徴を持つ。

【出題の意図】

本設問は、硬骨魚類と哺乳類の生体防御機構を題材として、魚類の生体防御の働きに関して、論理的に整理・説明する力を評価することを目的とする。さらに、魚類の生態や生理機構、病原体との関連を複合的に考慮させ、生体防御機構について解答させることで、大学院レベルの研究能力の基礎となる課題設定力・思考力・表現力を測ることを意図している。