

科目記号	科目名
L	水産資源 開発工学

解答（解答例）・出題の意図

出題内容：酵素機能化学

出題番号 431

【解答例】

- ・お酒を飲むと、体内でエタノールがアセトアルデヒドに変換され、さらに、アセトアルデヒドがアルデヒド脱水素酵素（ALDH2）によって毒性のない酢酸に分解される。（5点）
- ・「お酒に強い・弱い」という人の体質は、顔面紅潮、眠気、吐き気など不快症状をもたらすアセトアルデヒドを分解する ALDH2 のタイプによって決まる。（5点）
- ・ALDH2 は、正常型の ALDH2*1 あるいは不活性型の ALDH2*2 から成る 4 量体である。（5点）
- ・ALDH2*1 は成熟酵素の N-末端から 487 番目のアミノ酸残基が Glu であり、ALDH2*2 は Lys である。（5点）
- ・ALDH2 の 4 量体が全て ALDH2*1 で構成される人はお酒に強い人であり、4 量体が全て ALDH2*2 で構成される人はお酒が飲めない人である。また、ALDH2 が ALDH2*1 と ALDH2*2 の両方で構成される人はお酒に弱い人である。（5点）

出題番号 432

【解答例】

（1）リボ核酸を加水分解して、オリゴヌクレオチドあるいはモノヌクレオチドを生成する反応を触媒する酵素。（5点）

（2）リボヌクレアーゼを 8 M 尿素中で β -メルカプトエタノール処理すると、還元され、酵素活性を失ったランダムコイル状のポリペプチド鎖となる。（3点）このポリペプチド鎖を β -メルカプトエタノールを含まない 8 M 尿素溶液中で再酸化させ、透析により尿素を除去すると、誤ったジスルフィド結合が形成されたリボヌクレアーゼとなる。（7点）これを scrambled ribonuclease と言う。

（3）微量の β -メルカプトエタノールは、scrambled ribonuclease のジスルフィド結合の再構築を触媒する。（3点）そのとき、ribonuclease のアミノ酸配列に基づいた、105 通りのうちの、最も熱力学的に安定な 4 つのジスルフィド結合が形成されるので、本来の 3 次構造および酵素活性を持った native ribonuclease に変換される。（7点）

【出題の意図】

進学後に、水産生物由来の酵素、水産物由来成分の酵素を利用した構造・機能改変等に関する研究を希望する受験者は、酵素機能化学を選択・受験すると考えられる。そこで、出題番号 431 では、酵素タンパク質の構造機能特性と生命現象との関係性についての問題を出題した。

また、大学院では他研究者の先行研究の英語論文を精読して研究の概要を把握するとともに、そ

これらの知見をもとに自らの研究結果を考察することとなる。そこで、出題番号 432 では、酵素タンパク質の構造特性に関する受験生の知見を英文問題として問うた。

出題内容：北方生物圏機能生物学

出題番号 481

【解答例】

(1) (ア) サイズ, (イ) 極性, (ウ) 親水, (エ) 疎水, (オ) 物理化学, (カ) 保守的な置換

(2) 以下のとおり。

オーソログ：祖先分子が同一で、種分化により生じた相同遺伝子

パラログ：祖先分子が同一で、種内の遺伝子の重複により生じた相同遺伝子

(種分化と種内といった用語を正しく用いられているか)

(3) 例えば下の 2 つが挙げられるが、他にも多くの例が想定される。

インスリン様成長因子 (IGF) -1 と -2：哺乳類において、IGF-1 は発生後の成長、IGF-2 は発生に関わるとされる。

Na^+ , K^+ -ATPase (NKA)：サケ科魚類において NKA を構成する α サブユニットのうち、 $\alpha 1a$ は淡水型、 $\text{NKA } \alpha 1b$ は海水型とされる。

(パラログに分類される重複遺伝子を記載し説明できているか)

出題番号 482

【解答例】

(1) 下の 3 パターンが挙げられる。

遡河回遊：川や湖といった淡水で生まれ、その後海に下り、産卵のために川を遡上する (例：サケ科魚類)。

降河回遊：海で生まれ、その後川や湖といった淡水に移動し、産卵のために川を下る。(例：ニホンウナギ)

両側回遊：一生の間に、川・湖と海の間を行き来するが、その移動は産卵のためではない。(例：アユ)

(産卵のためにどちらの方向に移動するのかを正しく記載できているか。また、それ以外の区分も理解しているか)

(2) 以下のように説明される。

生産性仮説：全球的に高緯度地方にはサケ科魚類などの遡河回遊魚の種類数が多く、赤道付近の低緯度地方にはウナギなどの降河回遊魚が多い。これは、海と川の実産性の違いが緯度によって異なるためという生産性仮説によって説明される。すなわち、高緯度では海の方が川よりも生産性が高いため、遡河回遊の生活史が進化しやすく、逆に低緯度では川の高い生産性により、降河回遊が進化しや

すいとされる。

安全地点仮説：もともと生産性仮説で説明できないキュウリウオ科の生活史パターンを説明する仮説である。本仮説では、キュウリウオ科魚類は産卵のため海から川に移動するのは、川の方が外敵などが少なく安全であるためとされている。

(緯度、川と海の生産性の違い、該当する魚種、生産性以外の要因などのキーワードを適宜用いて説明できているか)

(3) シロザケは、海洋において、前年の秋までの成長の良否により次の年に産卵回遊を行って母川に回帰するかを決めているとされる。成熟のスイッチが入らなかった個体は、次年度以降に成熟を先延ばしにする。海洋における成長は餌豊度などにより個体レベルで異なり、同じ個体群でも成熟のスイッチが入る個体と入らない個体に分かれるため、回帰魚の年齢がばらつく。

(季節的な成長と成熟開始の関係に基づいて説明できているか)

【出題の意図】

水産資源開発工学講座には、魚類生理学・機能生物学を専門分野とする研究室がある。この研究室は、生理学・生化学・機能生物学を基盤にしながら、水圏生物が環境に適応して進化してきたことや人間活動の影響を直接・間接的に影響を受けること踏まえ、水産資源を適切に開発・生産・管理していくことを目指している。大学院進学後にはそのような知識、視点および技術が必要となる。以上を踏まえ、出題番号 481 は、タンパク質の立体構造を規定する基本的な原理についての理解と、そういった原理により分子進化したタンパク質の例を問う問題とした。出題番号 482 は、サケやウナギといった重要な水産資源を含む通し回遊魚について、回遊のパターンを正確に整理・理解し、それらの進化的背景を説明できるかどうかを問う問題とした。

出題内容：比較生理学

出題番号 491

【解答例】

(1) 以下の3つが主要な作用様式として挙げられる。

内分泌：ホルモンが内分泌細胞で産生され、血流を介して標的細胞に作用する様式

傍分泌：ホルモンが血流を介さずに隣接・周辺の細胞に作用する様式

自己分泌：ホルモンがそれを産生した細胞自身に作用する様式

進化的には、自己分泌、傍分泌および内分泌の順に古いとされている。

(用語を正しく用いて説明しているか)

(2) 膜受容体は、細胞外で親水性のリガンドと結合すると、細胞内シグナル伝達により細胞の物質輸送や形・極性の変化などの速い生体反応(秒～分単位)を引き起こす。一方、核受容体は、細胞膜を通過した疎水性リガンドと細胞内で結合して複合体を形成する。そして核内に移行し、特定の DNA 配列に結合して転写因子として遺伝子の発現を調節する。こちらの反応は相対的に遅い(時間単位)と言われている。

(両者の違いを正しい用語を用いて対比させながら説明できているか)

(3) 内分泌系は、ホルモンを分泌して遠隔の広範囲の細胞に影響を及ぼす。その情報伝達は比較的遅く長時間持続する。一方、神経系は、シナプスにより局所的な細胞に影響を及ぼす。その情報伝達は比較的早い持続時間は短い。

(両者の違いを正しい用語を用いて対比させながら説明できているか)

出題番号 492

【解答例】

(1) プロラクチン。プロラクチンの作用は脊椎動物において非常に多岐 (300 とも言われている) に亘っていることが特徴である。例えば、両生類では水辺への移動、鳥類では換羽、哺乳類では乳汁の分泌などの作用が挙げられる。

(本ホルモンの作用の多様性を認識して記述できているか)

(2) まず、真骨類の体液の浸透圧とイオン濃度は海水の約 3 分の 1 である。そのため、淡水の中では水の流入とイオンの流出が問題となる。それに対応して、真骨類は淡水の中ではほとんど水を飲まず、腎臓による過量を増加させて多量の尿として水分を排出する。また、イオンについては、鰓からエネルギーを使い濃度勾配に逆らって環境水中から取り入れている。

一方、海水中では水の流出とイオンの流入が問題となる。真骨類は海水 (水とイオン) を飲んで水分を取り入れる。過剰となったイオン (1 価イオン) は、鰓からエネルギーを使い排出する。また、2 価イオンは少量の尿と共に排出する。

(水分と塩分のそれぞれの出し入れを正しく説明できているか)

(3) 真骨類において発見されたソマトラクチン。メダカの体色を調節しているという報告がある。脂質代謝への関与も示唆されているが、まだはっきりしていない。

(ソマトラクチンという名前を出せるか。他の解答例として、胎盤生ラクトゲンなども挙げられる)

(4) ヒトとサケで共通している成長ホルモンの作用は、骨や筋肉の成長の促進である。また、成長ホルモンは共通して脂肪の分解を促す。一方、サケに特異的な作用としては、海水適応能の向上が挙げられる。鰓に作用して塩類細胞の増殖や分化に関与する。この作用は成長の促進とは独立している。

(共通点と相違点を整理して説明できているか)

【出題の意図】

水産資源開発工学講座には、魚類生理学・機能生物学を専門分野とする研究室がある。この研究室は、生理学・生化学・機能生物学を基盤にしながら、水圏生物が環境に適応して進化してきたことや人間活動の影響を直接・間接的に影響を受けることを踏まえ、水産資源を適切に開発・生産・管理していくことを目指している。大学院進学後にはそのような知識、視点および技術が必要となる。以上を踏まえ、出題番号 491 は、脊椎動物の生体制御を行う内分泌系の作用様式・機序を正しく整理して理解しているのかを問う問題とした。出題番号 492 は、成長ホルモンやプロラクチンに

代表されるタンパク質ホルモンファミリーの作用の多様性と、真骨類における特異的な機能，特に浸透圧調節における役割をその基礎知識と共に問う問題とした。

出題内容：水産生化学

出題番号 541

【解答例】

(1) ODS (Octadecylsilyl) カラムは、シリカゲルの表面に炭素数 18 のアルキル基 (C18) が化学結合した固定相の逆相クロマトグラフィーである。試料中のタンパク質やペプチドは、固定相のアルキル基と疎水性相互作用を形成する。疎水性の低い分子は固定相との相互作用が弱いために早く溶出し、疎水性の高い分子ほど固定相に強く保持されて溶出する。分子の疎水性の違いに基づいて分離が行われる。

(2) ギ酸や TFA は、移動相を酸性に保ち、ペプチドやタンパク質中のアミノ基をプロトン化し、固定相との不必要な相互作用を抑制する目的で添加されて分離能や再現性が向上する。

(3) トリプシンは、リシンやアルギニンのカルボキシル側を特異的に切断するプロテアーゼである。そのため、タンパク質 X は多数のペプチド断片に分解される。これらのペプチドはアミノ酸配列や長さや疎水性が異なるため、ODS カラムとの相互作用の強さが異なる。その結果、各ペプチドが異なる保持時間で溶出し、多数のピークとして観察される。

(4) TOF 型質量分析により各ピークの質量電荷比 (m/z) を測定する。そして MS/MS によりペプチドを断片化してフラグメントイオンスペクトルを取得する。データベース検索や理論的に生じる消化ペプチドと照合してアミノ酸配列および由来タンパク質を同定する。

(5) 同じ保持時間を示すペプチドが複数存在する可能性がある。アミノ酸配列が異なっても疎水性が類似していればほぼ同じ保持時間で溶出する可能性がある。そのため、保持時間のみではペプチド配列を決定することはできない。

出題番号 542

【解答例】

(1) フェノールはタンパク質の立体構造を変性させる。変性タンパク質は水相と有機相の界面に移行する。DNA は親水性であり、中性～弱アルカリ性条件では水相に保持されるため、水相を回収することで DNA からタンパク質を除去できる。

(2) フェノール/クロロホルム抽出では、クロロホルムを加えることで相分離が明瞭になり、フェノールの残留を減らせる。

(3) DNA はリン酸基由来の負電荷をもつため、水中では水和されて溶解している。塩を添加すると、ナトリウムイオンが DNA の負電荷を中和する。有機溶媒を加えることで溶液の誘電率が低下し、DNA の溶解度が減少して沈殿する。

エタノール沈殿では 2~2.5 倍量のエタノールを添加する。DNA の回収率はやや低いが、塩やフェノールなどが共沈しにくく、高純度の DNA が得られやすい。

イソプロパノール沈殿は約 0.6~1 倍量のイソプロパノールで DNA を沈殿させるため、少量の溶媒で迅速に濃縮できる。しかし、塩類やタンパク質なども共沈しやすい。

(4) DNA の A260/A280 比は、一般に 1.8 が純度の高い DNA である。A260/A280 比が 1.30 と低いことから、DNA 試料中にタンパク質やフェノールなどの夾雑物が混入している可能性が高い。

(5) 純度を上げるのに以下の操作が考えられる。

- ・フェノール／クロロホルム抽出を再度行うことで残存するタンパク質を除去する。
- ・クロロホルム抽出を再度行うことでフェノールを除去し、純度を向上させる。
- ・Proteinase K 処理を行うことでタンパク質を分解し、DNA から除去する。
- ・70%エタノールで十分に洗浄することで塩類やフェノールなどの夾雑物を除去する。
- ・シリカカラムによる再精製を行うことで高純度の DNA を得る。

【出題の意図】

進学後に生化学系での研究を希望する受験者は水産生化学を選択すると考えられる。生化学系では研究の主軸を生化学的手法に基づいた成分の分離や同定技術・分析化学に重点をおいているため、進学後にこの分野を研究するために必要な考え方と知識を身につけているかを確認するため、この分野に関連する成分の分析手法（出題番号 541）、および遺伝子工学操作の基礎（出題番号 542）を中心とした問題を出題した。