

# 令和8年度 愛媛大学大学院農学研究科入学者選抜学力検査

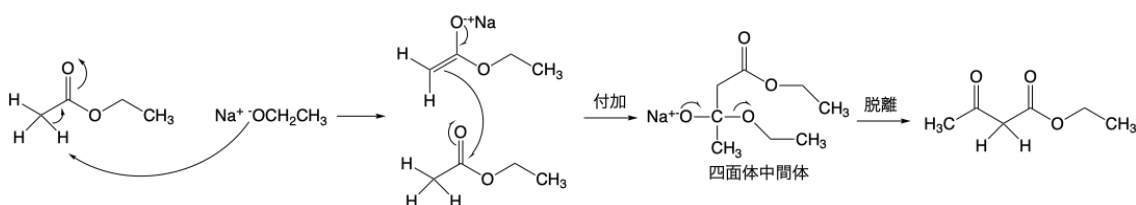
生命機能学専攻 応用生命化学コース 専門

生物有機化学教育分野

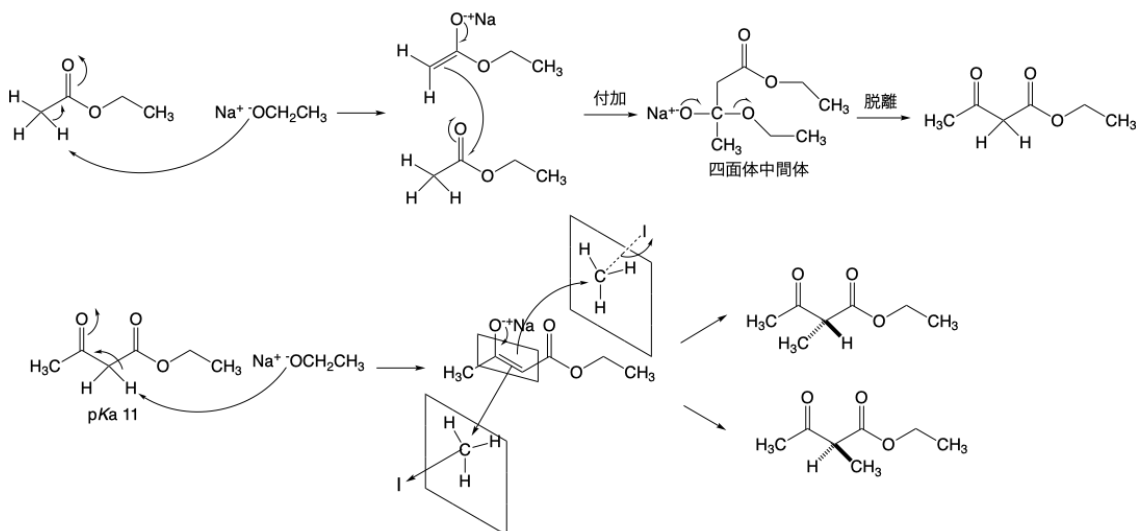
問 1

解答例

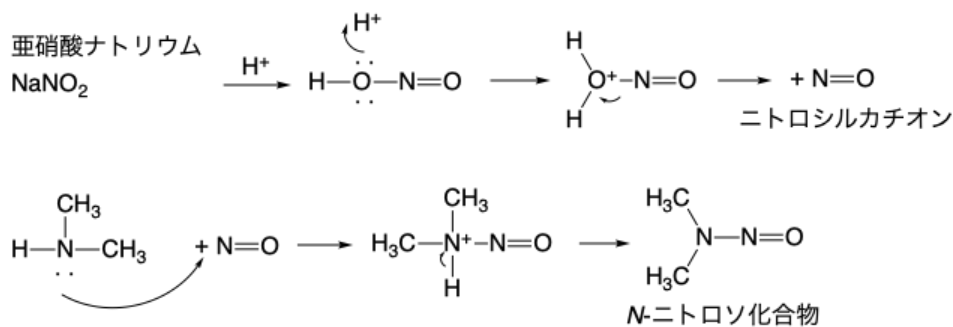
1) 強塩基であるエトキシイオンが  $pK_a$  値が低いエステルの  $\alpha$  位のプロトンを攻撃する。C-H 結合が  $\alpha$  炭素とカルボニル炭素との間の C=C になり、C=O のパイ電子対が酸素へ移動し、enolate が生成する。O マイナスが C=O に戻り enolate の C=C のパイ電子対が、エステルの  $\delta^+$  であるカルボニル炭素を攻撃し C=O のパイ電子対が O へ移動し付加反応となり、四面体中間体が生成する。カルボニル基に戻る時にエトキシドの脱離が起こり、ethyl 3-oxobutanoate が生成する。



より  $pK_a$  値の低い2つのカルボニル基に挟まれた2位のプロトンを強塩基のエトキシイオンが攻撃し、enolate が生成する。enolate が ketone に戻るときに2位の enolate の2つの面が  $\text{CH}_3\text{I}$  の炭素を  $\text{S}_{\text{N}}2$  的に攻撃し、2位がアルキル化され鏡像異性体が生成する。



2) 抗菌作用、褐変防止効果のため食品に添加される亜硝酸ナトリウムが  $\text{H}^+$  存在下で亜硝酸となり、さらに、OH 基の酸素上にプロトン化が起こり脱水によりニトロシルカチオンが生成する。2級アミンの N 上の非共有電子対がニトロシルカチオンを攻撃し、発ガン性の *N*-ニトロソ化合物が生成する。



## 問2

### 解答例

1) 植物が病原菌の侵入を認識すると局所的にサリチル酸が蓄積し、その情報が全身に伝えられる。その結果、病原菌に対して抗菌性を示すタンパク質などが生産されることにより、植物全身が病害に対して抵抗性が增强されることを全身獲得抵抗性と呼ぶ。

2) タンパク質を消化酵素により分解してペプチド断片を得たのち、MALDI-TOF や ESI-TOF を用いて質量を測定する。得られたピークリストを配列情報のデータベースの値と比較検討することにより、一致する可能性の高いタンパク質を同定する。タンパク質を消化する際には、精製したタンパク質を直接消化する場合だけでなく、SDS-PAGE などで分離した興味あるタンパク質由来のバンドをゲルごと切り出し、そのゲルにトリプシンなどの消化酵素をしみこませゲル内消化をする場合もある。

3) IPM は Integrated Pest Management の略であり、総合的病害虫管理のことを指す。IPM は、耕種的、物理的、化学的、生物学的防除法などの利用可能なすべての防除技術を経済性を考慮しつつ検討し、病害虫の発生増加を抑え、それを維持するための適切な手段を総合的に講じる管理方法であり、これを通じ、人の健康に対するリスクと環境への負荷を軽減する狙いがある。昆虫フェロモン自体に殺虫効果はないが、誘引効果によるマストラッピングやモニタリングに利用したり、交尾の遅延を誘発することによる次世代個体数の減少を引き起こしたりすることにより、持続可能な農業を推進する上で重要な役割を果たしている。

## 天然物有機化学教育分野

### 問 1

#### 解答例

界面活性剤に用いられる両親媒性分子は、分子の一方に親水性をもう一方に疎水性を有することで極性物質と疎水性物質のそれぞれと親和性を示すことができる。極性物質と非極性物質が共存するとき、界面活性剤は自身の親水性部を極性溶媒、疎水性部を非極性物質と接するように分子集合を作ることによってミセルやリポソームなどの形態をとって両者を均一に混合することができる。

### 問 2

#### 解答例

化学合成法では多様な試薬や有機溶媒を用いて合成することが一般的であり、多様な化学反応を安価に実施することができる点でメリットがある。一方で、酵素合成法では酵素を用いた反応を行うことで酵素反応に由来する選択性や補酵素の使用による効率的な合成を実施することができる。しかし、化学反応では試薬の消費による環境負荷の問題や、有機溶媒や精製などについてもコストや安全性の点で課題がある。これに対し、酵素反応では酵素の確保に向けたコストの負担や、酵素が触媒できない化合物の合成は実施できないなどの制約が存在している。

## 栄養科学教育分野

### 問 1.

#### 解答例

(1) パントテン酸：コエンザイム A の前駆体で、アセチル CoA やアシル CoA、ホスホパンテテイン等として  $\beta$ -酸化やそれに続く TCA サイクル、脂肪酸合成等において補酵素として働く。

ナイアシン：NAD の前駆体で  $\beta$ -酸化やそれに続く TCA サイクルにおける脱水素酵素の補酵素として働く。

(2) 鉄は、小腸において吸収されるが、吸収率は低い。ヘム鉄は、ヘムオキシゲナーゼによりポルフィリン骨格より  $\text{Fe}^{2+}$  を脱離し、非ヘム鉄は、鉄還元酵素や食事由来の還元物質によって  $\text{Fe}^{2+}$  となり取り込まれる。 $\text{Fe}^{2+}$  は、特異的輸送体によって門脈側に移出され、鉄酸化酵素によって  $\text{Fe}^{3+}$  となり、トランスフェリン結合鉄として全身に運ばれ、その多くが骨髄において、赤血球の産生に利用される。また肝臓や脾臓、骨髄にも輸送され、フェリチンと結合し貯蔵され、必要な時には再び供給される。鉄は、ヘモグロビン、ミオグロビンやシトクロム c をはじめとする各種酵素等を構成し、酸素の運搬・貯蔵、電子伝達系や組織内の酸化還元反応における電子の授受等に重要な働きをしている。

(3) アミノ酸として吸収されたタンパク質はそのタンパク質が持つ必須アミノ酸のバランスが良好であれば有効に体に保持され、保持できなかったものは尿素等の尿中窒素として排泄される。摂取したタンパク質の窒素量から糞中に排泄された窒素量を差し引くことで吸収窒素量が算出され、さらに尿中窒素量を差し引いたものが体内保留窒素量であり、生物価は吸収窒素量に占める体内保留窒素量の 100 分率で示され、タンパク質の質を評価する数値となる。なお、食事タンパク質に依存しない窒素の損失を考慮するため、タンパク質を摂取していないときの糞中および尿中の窒素量を、タンパク質摂取時の数値から差し引く必要がある。

### 問 2.

#### 解答例

(1) 食物繊維は口腔での咀嚼を促進し、満腹感を惹起する。またその保水性やゲル化能により胃内容物の滞留を長くしたり、膨満感を与える。また、小腸の内容物移動速度を遅延し、糖などの吸収速度を低下させ、耐糖能を改善させる。また、吸着能を持つ食物繊維は胆汁酸を吸着し腸肝循環を阻害することにより体外排泄を促進し、胆汁酸の原料であるコレステロールの血中濃度を低下させる。大腸ではある種の食物繊維は腸内細菌、特に乳酸を生成するビフィズス菌や乳酸菌の栄養源となり、相対的に生体に悪影響を与える菌の増殖を抑える。

(2) インスリンや、成長ホルモン (GH)、アミノ酸はリボゾームにおけるタンパク質の翻訳開始を促し、体タンパク質の合成を促す。成長ホルモン (GH) は直接またはインスリン様成長因子 (IGF-1) の分泌を介して作用する。不要あるいは余剰な体タンパク質はリソソーム系におけるオートファジーにより非選択的にアミノ酸に分解されるか、ユビキチン-プロテアソーム系により選択的に分解されている。体タンパク質の分解においては前者の寄与が大きく、インスリンなどのホルモンやアミノ酸により調整されている。

(3) グレリン：絶食やエネルギー摂取の不足に応答し胃から分泌され、視床下部において摂食の亢進を、下垂体において成長ホルモンの分泌を促進することが知られている。

コレシストキニン：消化管腔内への脂肪、タンパク質の流入に応答し十二指腸、空腸から分泌され、膵臓において膵酵素分泌を促進し、胆のうの収縮を促す。末梢神経を介して摂食を抑制することも知られている。

## 生化学教育分野

### 問 1.

#### 解答例

(1) 一次構造とは、標準アミノ酸 20 種類がペプチド結合したポリペプチド鎖の線状配列のことであり、アミノ末端からカルボキシ末端の方向に記載したものである。二次構造とは、ポリペプチド鎖が局所的に取る規則性のある構造であり、 $\alpha$ ヘリックスと $\beta$ シートがある。主鎖間の水素結合で形成される。三次構造とは、二次構造がコンパクトに折りたたまれたもので、主鎖だけでなく側鎖間の相互作用も形成に参与する。二次構造の集合パターンには規則性があり、規模の小さなものはフォールド、大きなものはドメインと呼ばれる。四次構造は、複数のポリペプチド鎖が会合したものである。個々の三次構造をサブユニットと呼ぶ。

(2) 立体構造が分かれば、酵素の活性中心の位置とその形状、基質の認識機構を知ることができる。基質とは構造が微妙に異なる化合物で、そのスペースにうまくはまり込む化合物(阻害剤)をデータベースから探索することで、迅速な創薬開発が可能となる。

### 問 2.

#### 解答例

(1) ジスルフィド結合: 一对のシステイン残基のチオール基の間で形成される共有結合。タンパク質の立体構造の安定化に寄与する。

(2) 分子間および分子内で形成されるジスルフィド結合を還元的に開裂させ、タンパク質を一本鎖の状態とし、分子サイズに応じた泳動を行うため。

(3) dithiothreitol (DTT)、2-mercaptoethanol など

## 微生物学教育分野

### 問 1.

#### 解答例

一連の醸造工程は、製麴工程と発酵工程に二分できる。

まず製麴工程は、糖化酵素をはじめとする一連の加水分解酵素など酵素類の生産が主な目的であり、これによる原材料の低分子化が後の発酵微生物の栄養を供給する上で極めて重要である。関わる微生物は、糸状菌の一種である黄色コウジカビ (*Aspergillus oryzae*) であり、その無性世代は不完全菌類に属する。孢子 (分生子) の外観は、黄緑色を呈しており、その着生する菌糸先端付近は、頂囊を中心としたフィアライドを形成しており、外生孢子のため極めて飛散しやすい形状となっている。

続いて発酵工程はエタノール生産を主とし、これに加えて風味成分である有機酸、アミノ酸、糖、エステル類などが微生物の代謝活動により産生される。時系列的には、まず栄養要求性の低い *Pseudomonas* 属に代表される硝酸還元細菌が増殖し始め、それに伴う亜硝酸の作用により一定の雑菌が抑制される。続いて栄養要求性が比較的低い乳酸球菌 (*Leuconostoc* 属) が現れ、ヘテロ乳酸発酵による pH 低下が進み、これにより限定的なマイクロフローラ環境が形成される。この pH 低下は、原材料の分解に関わる一連の酵素の作用とも連動し、すなわち適合する至適 pH を有する酵素が働き始める。この後も同様の流れとなり、pH 耐性をもつ乳酸桿菌 (*Lactobacillus sake*) がそれまでの乳酸球菌に代わって台頭し、さらに pH が低下する。これに合わせて主発酵に関わる耐酸性酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) が増殖を開始し、先に述べたエタノールなど一連の風味成分が産生されることになる。

### 問 2.

#### 解答例

##### ◎容器包装詰加圧加熱殺菌食品における殺菌条件

pH4.6 および水分活性 (Aw) 0.96 を加熱殺菌条件の目安としており、pH および Aw がこの数値を超える食品については低酸性食品として、120°Cで4分あるいはこれと同等以上の加圧加熱処理をしなければならないことが食品衛生法において定められている。

##### ◎関与する微生物名

##### *Clostridium botulinum*

一般的な土壌細菌であり、食品中で産生されたタンパク質性毒素を食品とともに摂取して起こるボツリヌス食中毒 (食餌性ボツリヌス毒素) の原因菌である。悪心、嘔吐及び下痢など消化器症状に始まり、続いて神経麻痺症状がみられるようになり、食中毒菌の中でも最も致死性が高いとされる。

1. 休眠細胞である芽胞を形成する細菌であり、Wirtz 法または Moeller 法による染色操作により細胞内に着色した内生孢子、いわゆる芽胞が観察される。

2. 芽胞の構造は外側から孢子殻、外膜、コルテックス、発芽細胞壁、孢子細胞膜、コアの順で構成されており、最も中心となるコアには遺伝情報である DNA が酸可溶性低分子タンパク質 (SASP) によって保護されている。

3. その内部は極めて水分活性が低く乾燥した状態であり、酵素作用や熱伝導など外環境から DNA が影響を受けにくい仕組みとなっている。

結果として、熱、乾燥、放射線、酸、アルカリ、薬剤など外的ストレスに対して極めて耐性の高い細胞形態である。このことは、食品の殺菌処理に対して高い抵抗性を示すことを意味している。

## 発酵化学教育分野

### 問 1

#### 解答例

1. アミノ酸や核酸などの生合成代謝は、限られた資源を効率的に利用するため、フィードバック調節によって制御されている。フィードバック調節は、アミノ酸などの代謝経路で作らえた最終生成物が、その経路の最初の反応を抑制することにより生成量を調節する仕組みである。

2. フィードバック調節を克服するために、現在では栄養要求性変異株、アナログ耐性変異株を用いて、アミノ酸発酵が実用化されている。栄養要求性変異株は代謝中間体の合成が阻害され、外部からのその代謝中間体を添加しなければ生育できない変異株であり、一部のアミノ酸合成が阻害されるために、協働で起こるフィードバックが進行しない。またアナログ耐性変異株は、最終産物の構造類縁体を添加された培地でも生育できる変異株であり、変異処理によってフィードバック調節を受けにくい性質をもつため、特定のアミノ酸の高生産が可能となる。

### 問 2

#### 解答例

寒冷地域の土壌を環境試料として用いる。土壌懸濁液をトリグリセリドを唯一の炭素源とする培地に添加し、10°Cで培養して、この条件で生育可能な微生物を集積培養する。2回ほど集積培養した培養液を、pH 指示薬を含む同一組成の平板培地に塗布しシングルコロニーを形成させて分離する。リパーゼ生産菌はトリグリセリドから脂肪酸を産生するため、コロニー周辺の pH が低下する。この性質を利用して、周囲の pH 指示薬の色の変化させるコロニーをリパーゼ生産菌として選抜する。

## 動物細胞工学教育分野

### 問 1.

#### 解答例

細胞融合法には、ポリエチレングリコール法と電気融合法がある。ポリエチレングリコール法では、融合したい 2 種の細胞に対してポリエチレングリコールを作用させることで細胞膜構造を弛緩させ、その後ポリエチレングリコールの排除による膜構造の回復の時に膜融合が起こる。一方、電気融合法は、融合したい 2 種の細胞を細胞融合用のマニトール緩衝液に懸濁し、それを 1mm 程度の間隔があいた電極と電極の間に流し込む。まず、交流の電圧を印加することでパルスチェーンの形成を誘発し、その後直流の高電圧を印加することで一過性の膜破壊を誘導する。その後の膜回復の過程で細胞融合が起きる。前者は、融合操作による細胞生存に及ぼす影響は低いものの、融合効率が悪い。一方後者は、融合効率は良いものの、細胞に対する傷害性が高く、高い生存率を維持するには、電圧強度や印加時間などの最適化が必要である。

形質細胞腫やミエローマ細胞などの無限増殖能をもつガン細胞と、特定の抗原に対する抗体を作るものの、寿命がある正常 B リンパ球を細胞融合し、目的の物質に対して特異的に結合する抗体を産生しつつ無限増殖能をもつ融合細胞をハイブリドーマという。ハイブリドーマは、目的の物質で免疫誘導したマウスの脾臓から回収したリンパ球と、ヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT) を欠損した形質細胞腫を、上記のポリエチレングリコール法や電気融合法を用いて融合させて作製する。融合作業によりハイブリドーマが作製できるものの、同種細胞同士の融合体や融合しなかった細胞も混在することから、融合作業の後に、ハイブリドーマのみを選択的に増殖させる選択培地 (HAT 培地) で 1~2 ヶ月培養することでハイブリドーマのみを得ることができる。HAT 培地とは、ヒポキサンチン (H)、アミノプテリン (A)、チミジン (T) を含有した培地で、H と T は、サルベージ回路における塩基合成の材料となる成分である。細胞はサルベージ回路と新生経路を用いて塩基を合成しているが、HAT 培地中では、新生経路はアミノプテリンにより阻害されるためサルベージ回路で塩基合成する。しかし、融合パートナーである形質細胞腫は、サルベージ回路での塩基合成に必須の HGPRT を欠損しているため、HAT 培地中では生存できない。ハイブリドーマ以外は HAT 培地中では長期生存できず、結果としてハイブリドーマのみを選択的に得ることができる。

回収したハイブリドーマは、限界希釈法によりクローニングし、目的とする抗体を産生するハイブリドーマクローンを選択する。このクローン化されたハイブリドーマは産生する抗体をものクローナル抗体と呼び、非常に高い特異性で、目的物質と抗原抗体反応により結合することが出来る。モノクローナル抗体は、その高い抗原特異性により、高感度の検出試薬として、酵素抗体法 (ELISA)、免疫組織染色法、ウエスタンブロットティングなどに活用されるとともに、病気の診断や抗体医薬として治療にも利用されている。

## 問2.

### 解答例

細胞内情報伝達における二次メッセンジャーの一つとして、環状アデノシンーリン酸 (cAMP) が挙げられる。

cAMP は細胞内において、アデニル酸環化酵素 (アデニル酸シクラーゼ) によってアデノシン三リン酸 (ATP) から合成される。また、環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼによってアデノシンーリン酸 (AMP) に分解される。この合成と分解のバランスによって細胞内 cAMP 濃度が規定される。

cAMP の標的タンパク質としてプロテインキナーゼ A (cAMP-dependent protein kinase A ; PKA) が挙げられる。

PKA は、cAMP 依存的に活性化されるセリン/スレオニンリン酸化酵素で、cAMP 結合部位を持つ調節サブユニット二つと、リン酸化触媒部位を持つ触媒サブユニット二つにより構成される四量体ホロ酵素である。サイクリック AMP が調節サブユニットに結合すると、調節サブユニットと触媒サブユニットが解離し、触媒サブユニットが活性化する。

活性化した触媒サブユニットは、基質タンパク質をリン酸化して細胞内代謝を調節したり、遺伝子発現を調節したりする。

## 遺伝子制御工学教育分野

### 問 1.

#### 解答例

- (1) 緩和複製するプラスミドは大腸菌内でのコピー数が多い。そのため、大腸菌から大量のプラスミドを調製することができる。
- (2) エレクトロポレーション
- (3) A. 形質転換した細胞数:  $8 \times 10 \times 100 = 8,000$   
コンピテントセル 100  $\mu\text{L}$  中の細胞数:  $200 \times 10 \times 100 \times 100 = 20,000,000$   
 $8,000/20,000,000 = 0.0004$  0.04%
- B. 2  $\mu\text{L}$  プラスミド溶液には  $2 \times 10 \text{ ng}/\mu\text{L} = 20 \text{ ng} = 0.02 \mu\text{g DNA}$  が含まれる  
A. より形質転換した細胞数は 8,000  
 $8,000/0.02 = 4 \times 10^5 \text{ cells}/\mu\text{L}$
- (4) A. (%) 1 倍 (変化なし)  
B. (CFU/ $\mu\text{g DNA}$ ) 2 倍

### 問 2.

#### 解答例

- (1) 組み換えタンパク質の中には大腸菌に対して毒性を示すものがあり、恒常的に発現させると大腸菌の生育を阻害するため
- (2) ヒスチジンの連続配列を付加した目的タンパク質を発現させた細胞の抽出液を調製する。ヒスチジンの連続配列はニッケルに結合するため、ニッケルを結合させた樹脂と抽出液を混合すると目的タンパク質が特異的に樹脂に結合する。この樹脂を洗浄後、過剰なイミダゾールを添加することでニッケル樹脂から目的タンパク質を特異的に外し、溶出することで目的タンパク質を精製する。
- (3) 目的タンパク質をニッケル樹脂に吸着させた後プロテアーゼ処理することにより
- ・ヒスチジンタグを除いた目的タンパク質を精製することができるためタグによる機能低下の可能性を減らすことができる
  - ・イミダゾールを用いた溶出よりも目的タンパク質以外のタンパク質の溶出を抑えることができる。
- (4) タンパク質の疎水性部分に結合しタンパク質をマイナスに荷電させることで、電気泳動によってプラス極に移動するようになる。

## 細胞分子機能学教育分野

### 問 1

#### 解答例

真核生物において、SRP 経路によって輸送される蛋白質は、アミノ末端に小胞体移行シグナルを有する。翻訳開始によりリボソームから出てきた移行シグナルは SRP により認識され、SRP が結合することで、翻訳が停止する。その後、SRP は小胞体タンパク質輸送チャンネル（トランスロコン）付近にある SRP 受容体（ドッキングプロテイン）と相互作用することで、SRP とリボソーム、新生ポリペプチドからなる複合体は、小胞体トランスロコンに導かれる。SRP と受容体が結合すると、新生ポリペプチドはトランスロコンのチャンネルに挿入され、SRP がリボソームから離れる。この解離により、翻訳が再開される。SRP は、GTP の加水分解によって SRP 受容体から解離し、SRP による蛋白質輸送サイクルが繰り返される。小胞体膜上のリボソームで翻訳された蛋白質は、小胞体の内部に達すると、シグナルペプチダーゼにより、移行シグナルが切断される。

### 問 2

#### 解答例

(1) ミトコンドリアと葉緑体（色素体でも可）

(2) 考え方：細胞内共生説

類似点：大きさの類似性

オルガネラゲノムの存在とその形状（環状）

rRNA の塩基配列の類似性

分裂機構（2 分裂）の類似性

原核生物と類似した転写・翻訳システムの存在

細胞質ゾルとオルガネラ内に同じ酵素が存在するとき、オルガネラ内の酵素と原核生物の酵素との類似性

オルガネラを囲む生体膜を構成する脂質の種類類似性

オルガネラ内蛋白質輸送機構の類似性

等

## 地域健康栄養学

問1.

解答例

- ・ 食品摂取頻度を用いる場合は、複数日の「食事記録」を比較対象として、「妥当性」が確認されたものを用いることが望ましい。
- ・ 調査対象集団において、調査目的の栄養素の「寄与率」の高い食品を調べているものが望ましい。
- ・ 食品摂取頻度調査では、推定した栄養素等摂取量の「絶対値」の評価を目的としておらず、「ランク付け」を目的としている。

等。

問2.

解答例

(1)	統計解析名 分散分析			
	理由 分散分析の帰無仮説は「すべての群間の母平均は等しい」であり、分析の目的に沿っていると考えたため。			
(2)	研究デザイン	コホート研究		
	頻度に関する指標	罹患率		
(3)	交絡因子①	年齢	理由	年齢によって魚摂取量や高血圧の罹患率に違いがあるため
	交絡因子②	性別	理由	性別によって魚摂取量や高血圧の罹患率に違いがあるため