

令和 7 年度 九州大学大学院生物資源環境科学府
修士課程一般入試問題

科 目 名：専門科目
専 攻：生命機能科学
教育コース：システム生物学
研 究 分 野：微生物遺伝子資源学

注意

1. 「解答はじめ」の合図があるまで問題用紙を開いてはいけません。
2. 問題用紙は 5 枚（表紙を含む）あります。試験開始後、まずすべての用紙がそろっていることを確認しなさい。
3. 解答のスペースが足りないときには、裏を使用しなさい。

第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 1. 目的遺伝子がコードするタンパク質を大腸菌によって生産させたい. この実験について以下の問いに答えよ.

問 1. 上記の実験では, 一般的に発現ベクターが用いられる. クローニングベクターと発現ベクターの違いについて説明せよ.

問 2. 発現ベクターに目的遺伝子をクローニングする際に, ベクター由来のアミノ酸配列が付加される場合がある. これを防止するために In-fusion クローニングや Gibson assembly などの手法が用いられる. これらの手法と制限酵素切断によるクローニングの違いについて説明せよ.

問 3. 発現ベクターを用いて大腸菌を形質転換する. 大腸菌の形質転換法について主な手法 2 つをあげ, それぞれについての操作方法と長所・短所を説明せよ.

第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 1.

問 4. 目的遺伝子を挿入した pET 系ベクターによって形質転換された大腸菌 BL21(DE3)を 1 晩培養した前培養液を新鮮な LB 液体培地（選択用抗生物質を含む）に 3%植菌し、37℃で振とう培養し、ある時期に誘導物質を添加する。この誘導物質の名称と添加する理由を記載せよ。

問 5. 問 4 の実験での大腸菌の増殖曲線を図示せよ。また、図示した増殖曲線中に増殖各期の名称とその期間を記載し、誘導物質の添加時期を丸で示せ。

解答は以下に記述（足りない場合は裏面を使用すること）

第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 2. 遺伝子工学では様々な電気泳動法が用いられる。電気泳動について以下の問題に解答せよ。

問 1. ゲル電気泳動法は生体高分子の分離に用いられる方法であるが、主に 2 つの化学物質がゲルの素材として用いられる。それぞれの名称と用途（どのようなサイズの分子の分離に用いられるか）説明せよ。

問 2. 組換え大腸菌から pUC18 プラスミドをアルカリ-mini prep 法によって抽出し、一般に用いられる電気泳動（ゲル素材濃度 1%）を行った。その時の電気泳動パターンを図示しなさい。ただし、パターンのサイズが分かるようにサイズマーカー（例：1kb ラダー）をパターンの左側に図示すること。

問 3. 電気泳動後、臭化エチジウム（EtBr）を用いた染色を行うことがあるが、これは EtBr のどのような性質を利用したものか答えよ。

解答は以下に記述（足りない場合は裏面を使用すること）

第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 3.

問 1. ファージ I は大腸菌 A 株で増殖可能だが大腸菌 B 株では増殖しない。一方、ファージ II は大腸菌 B 増殖可能だが大腸菌 A 株では増殖しない。これは制限修飾系によるものと推測した。A 株と B 株が融合した大腸菌細胞が存在すると仮定すると、それぞれのファージはその細胞で増殖可能かを理由と共に記述せよ。

問 2. DNA を微生物細胞から抽出するときに Tris-HCl (pH 8.0), EDTA を加える理由を記述せよ。

問 3. ゲノム DNA を鋳型とした PCR を実施した。2 個のプライマーとも T_m が適正で、それらの間の距離が 1,000 bp は、反応液組成も適正だったが DNA は増幅されなかった。プライマーや DNA の構造に起因する原因として考えられるものを 2 つ記述せよ。

解答は以下に記述（足りない場合は裏面を使用すること）

令和 7 年度 九州大学大学院生物資源環境科学府 修士課程一般入試問題

科 目 名：専門科目
専 攻：生命機能科学
教育コース：システム生物学
研 究 分 野：微生物遺伝子資源学
解答例

注意

1. 「解答はじめ」の合図があるまで問題用紙を開いてはいけません。
2. 問題用紙は 5 枚（表紙を含む）あります。試験開始後、まずすべての用紙がそろっていることを確認しなさい。
3. 解答のスペースが足りないときには、裏を使用しなさい。

第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 1. 目的遺伝子がコードするタンパク質を大腸菌によって生産させたい. この実験について以下の問いに答えよ.

問 1. 上記の実験では, 一般的に発現ベクターが用いられる. クローニングベクターと発現ベクターの違いについて説明せよ.

問 2. 発現ベクターに目的遺伝子をクローニングする際に, ベクター由来のアミノ酸配列が付加される場合がある. これを防止するために In-fusion クローニングや Gibson assembly などの手法が用いられる. これらの手法と制限酵素切断によるクローニングの違いについて説明せよ.

問 3. 発現ベクターを用いて大腸菌を形質転換する. 大腸菌の形質転換法について主な手法 2 つをあげ, それぞれについての操作方法と長所・短所を説明せよ.

解答例

問 1.

クローニングベクター: 主に目的遺伝子を挿入し安定的に多量複製するために設計されたベクターで, 通常はプラスミドやウイルス DNA を基盤に構築される. クローニングベクターは, 多くの場合, クローニングサイト (例えば, 多種の制限酵素切断部位を一カ所のみ有するマルチクローニングサイト) を持ち, 挿入される目的遺伝子が容易に挿入できるように設計されている.

発現ベクター: 目的遺伝子を発現させ, タンパク質を生成するためのベクターであり, クローニングベクターと同様の特性を持つが, プロモーター, オペレーターなど転写制御因子やリボゾーム結合部位など翻訳制御因子を含む. これらによって, 挿入された目的遺伝子が任意に転写・翻訳されることが可能となる.

問 2.

制限酵素切断によるクローニング: これまで汎用されてきたクローニング方法で, 各種の制限酵素を用いてベクターと目的遺伝子を切断し, 同じ制限酵素切断部位を持つ DNA 断片同士, または連結可能となるように末端を調製した DNA 断片同士をリガーゼで結合する.

In-fusion クローニングや Gibson assembly を用いたクローニング: これらの手法は, 結合末端の特定の配列相補性を利用して目的遺伝子とベクターを連結する. これにより, クローニングサイトに影響なく目的遺伝子配列がベクターに挿入される. In-fusion クローニングではインソリュートメント法を利用し, Gibson assembly ではエンドヌクレアーゼと DNA ポリメラーゼを使って連結末端を調製する.

問3.

熱ショック法(塩化カルシウム法またはハナハン法):

操作方法: 大腸菌にプラスミドを取り込ませるために、氷上でプラスミド DNA と化学処理により膜透過性を向上させた大腸菌を混合し、急速に熱ショック(42℃程度)を与える。これによって、細胞膜が一時的に透過性を持ち、プラスミドが細胞内に取り込まれる。

長所: 特定の装置が無くても手軽に行え、多くの大腸菌株で効果的。

短所: 形質転換効率が低く、特定の株や大型プラスミドには不向き。

電気穿孔法(エレクトロポレーション):

操作方法: 高電圧パルスを使用して、大腸菌の細胞膜に一時的な穿孔を形成し、プラスミドの取り込みを促進する。電気穿孔後、細胞を復活培養で回復させる。

長所: 形質転換効率が比較的高く、大型プラスミドにも適している。

短所: 高価な装置が必要で、菌株によっては操作に注意を払う必要がある。

第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 1.

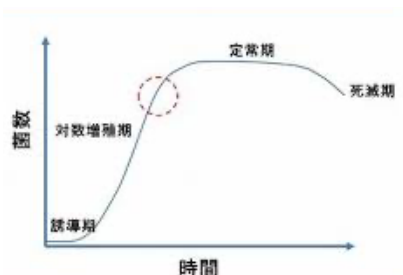
問 4. 目的遺伝子を挿入した pET 系ベクターによって形質転換された大腸菌 BL21(DE3)を 1 晩培養した前培養液を新鮮な LB 液体培地（選択用抗生物質を含む）に 3%植菌し、37℃で振とう培養し、ある時期に誘導物質を添加する。この誘導物質の名称と添加する理由を記載せよ。

問 5. 問 4 の実験での大腸菌の増殖曲線を図示せよ。また、図示した増殖曲線中に増殖各期の名称とその期間を記載し、誘導物質の添加時期を丸で示せ。

解答は以下に記述（足りない場合は裏面を使用すること）

問4. IPTG(イソプロピル- β -D-1-チオガラクトピラノシド)。pET 系ベクターは T7 プロモーターの下に目的遺伝子が配置されており、これを発現させるためには T7 RNA ポリメラーゼが必要。大腸菌 BL21(DE3)株は、ゲノムに T7 RNA ポリメラーゼ遺伝子を持つが、これは lacUV5 プロモーターの下に置かれている。IPTG を添加すると、lac リプレッサーが IPTG と結合して不活性化され、lac プロモーターが解放され、T7 RNA ポリメラーゼが発現し、T7 プロモーター下流の目的遺伝子が転写され、目的タンパク質が合成される。また、IPTG は非代謝性誘導物質であり、分解されずに効果を持続するため、目的遺伝子の発現をタイミングよくコントロールすることが可能である。これにより、細胞の増殖段階に応じた適切なタイミングで目的タンパク質を大量に発現させることが可能となる。

問5.



第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 2. 遺伝子工学では様々な電気泳動法が用いられる。電気泳動について以下の問題に解答せよ。

問 1. ゲル電気泳動法は生体高分子の分離に用いられる方法であるが、主に 2 つの化学物質がゲルの素材として用いられる。それぞれの名称と用途（どのようなサイズの分子の分離に用いられるか）説明せよ。

問 2. 組換え大腸菌から pUC18 プラスミドをアルカリ-mini prep 法によって抽出し、一般に用いられる電気泳動（ゲル素材濃度 1%）を行った。その時の電気泳動パターンを図示しなさい。ただし、パターンのサイズが分かるようにサイズマーカー（例：1kb ラダー）をパターンの左側に図示すること。

問 3. 電気泳動後、臭化エチジウム（EtBr）を用いた染色を行うことがあるが、これは EtBr のどのような性質を利用したものか答えよ。

解答は以下に記述（足りない場合は裏面を使用すること）

問 1

アガロースゲル

用途: 主に比較的大きなサイズの DNA 分子(約 100bp 以上から 20kb 程度まで)の分離に用いられる。

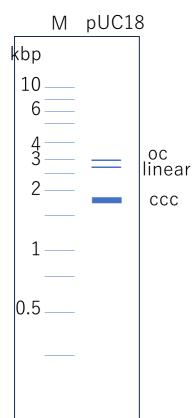
特長: アガロースは海藻から抽出される多糖類で、DNA や RNA の分子をサイズに応じて分離するのに適している。電気泳動中の低温でも固化したままで、操作が簡単で視覚的に確認しやすい。

ポリアクリルアミドゲル

用途: 主に小サイズの DNA、RNA、タンパク質の分離に用いられる。タンパク質の分離には SDS-PAGE が用いられる。

特長: ポリアクリルアミドはアクリルアミドとビスアクリルアミドを重合させて作られる高分子ゲルで、高い分離能を持ち、分子サイズの分解能が高く、これにより、小さな分子やタンパク質の分子量差を明確に分離できる。

問 2



問 3

臭化エチジウム(EtBr)分子は、DNA や RNA の塩基対の間に挿入(インターカレート)され結合する。また、EtBr は紫外線を照射すると強く蛍光を発するため、DNA や RNA のバンドを紫外線下で視認できる。

第一志望研究分野	受験番号（自筆）
微生物遺伝子資源学	

問題 3.

問 1. ファージ I は大腸菌 A 株で増殖可能だが大腸菌 B 株では増殖しない。一方、ファージ II は大腸菌 B 増殖可能だが大腸菌 A 株では増殖しない。これは制限修飾系によるものと推測した。A 株と B 株が融合した大腸菌細胞が存在すると仮定すると、それぞれのファージはその細胞で増殖可能かを理由と共に記述せよ。

問 2. DNA を微生物細胞から抽出するときに Tris-HCl (pH 8.0), EDTA を加える理由を記述せよ。

問 3. ゲノム DNA を鋳型とした PCR を実施した。2 個のプライマーとも T_m が適正で、それらの間の距離が 1,000 bp は、反応液組成も適正だったが DNA は増幅されなかった。プライマーや DNA の構造に起因する原因として考えられるものを 2 つ記述せよ。

解答は以下に記述（足りない場合は裏面を使用すること）

問 1.

できた大腸菌株は A タイプと B タイプの両方の制限能をもつことになる。制限能は優性に働くため、ファージ I が感染しても制限系 B で抑えられ、ファージ II は制限系 A で抑えられる。したがっていずれのファージは増えない。

問 2

Tris-HCl(pH8.0)は pH 緩衝剤で、DNA に安定な中性～微塩基性環境をつくる。EDTA はマグネシウムイオンのような二価金属イオンをキレートするが、これにより多くの DNA 分解酵素が不活化され、DNA が剪断されにくくなる

問 3

プライマー同士がアニール、あるいはプライマー内部でアニールする配列があると、プライマーだけで DNA 合成が起こる。このようなセルフアニーリング反応が起こると鋳型に使われるプライマー濃度が低下し、基質も消費されるため、増幅が起こらなくなる。

また、鋳型 DNA が高度に細断されてプライマー間距離に満たない DNA しかない場合や、DNA の G+C 含量が非常に高く(70%以上)、変性が不十分でプライマーが結合できなかつたり、立体構造障害により PCR 反応が進まない可能性も考えられる。

出題意図

問題 1. 大腸菌を用いた遺伝子産物の生産技術に関する基礎知識を問う。

問題 2. 遺伝子工学に必要な電気泳動法についての技術と知識を問う。

問題 3. 分子生物学や遺伝子工学で起こりうる諸問題についての知識と対処法を問う。