

- 問 1. **【専門基礎】** タンパク質の翻訳後修飾 (Post-Translational Modifications, PTMs) は、タンパク質がリボソームで合成された後に起こる化学的な修飾を指す。これらの修飾は、タンパク質の構造、機能、安定性、細胞内局在などに重要な役割を果たしている。代表的な翻訳後修飾について 4 種類以上を挙げて簡単に説明せよ。 (25 点)
- 問 2. **【専門基礎】** 細胞内の不必要になったタンパク質の処理には主にユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー-リソソーム系の二つのシステムが関与している。それぞれのシステムの概要とその役割を説明せよ。 (25 点)
- 問 3. **【専門】** 核多角体病ウイルス (Nuclear Polyhedrosis Virus, NPV) は、昆虫に感染するウイルスで、増殖過程において出芽ウイルス (Budded Virus, BV) と包埋体由来ウイルス (Occlusion-Derived Virus, ODV) の 2 種類のウイルス粒子を生産する。これらのウイルス粒子は遺伝子型が同一だが、表現型が異なり、それぞれの機能や役割も異なる。それぞれのウイルス粒子について説明せよ。 (25 点)
- 問 4. **【専門】** バキュロウイルスは、昆虫細胞に感染するウイルスであり、高い発現効率と優れた操作性から、遺伝子組み換えタンパク質の生産に広く利用されている。特に、ツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*) の細胞を宿主とする AcNPV (*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus) 生産系と、カイコ (*Bombyx mori*) を宿主とする BmNPV (*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus) 生産系の 2 つが代表的である。それぞれのタンパク質生産系について詳しく説明せよ。 (25 点)

問 1. 【専門基礎】 タンパク質の翻訳後修飾 (Post-Translational Modifications, PTMs) は、タンパク質がリボソームで合成された後に起こる化学的な修飾を指す。これらの修飾は、タンパク質の構造、機能、安定性、細胞内局在などに重要な役割を果たしている。代表的な翻訳後修飾について 4 種類以上を挙げて簡単に説明せよ。(25 点)

【回答例】 主要な翻訳後修飾の種類

1. リン酸化 (Phosphorylation):

リン酸基がセリン、スレオニン、またはチロシン残基に付加される。
細胞シグナル伝達や酵素活性の調節に重要である。

2. アセチル化 (Acetylation):

アセチル基がリジン残基に付加される。
クロマチン構造の調節や遺伝子発現の制御に関与する。

3. メチル化 (Methylation):

メチル基がリジンやアルギニン残基に付加される。
遺伝子発現の制御やクロマチン構造の調節に関与する。

4. ユビキチン化 (Ubiquitination):

ユビキチンタンパク質がリジン残基に付加される。
タンパク質の分解や細胞内局在の調節に関与する。

5. グリコシル化 (Glycosylation):

糖鎖がアスパラギン (N-結合) やセリン、スレオニン (O-結合) 残基に付加される。

細胞間相互作用、タンパク質の安定性、免疫応答に重要する。

6. パルミトイル化 (Palmitoylation):

パルミチン酸がシステイン残基に付加される。
膜結合性やタンパク質の局在化に関与する。

7. ニトロシル化 (Nitrosylation):

一酸化窒素がシステイン残基に付加される。
酵素活性の調節やシグナル伝達に関与する。

8. スルホ化 (Sulfation)

硫酸基がチロシン残基に付加される。
細胞外マトリックスとの相互作用やシグナル伝達に関与する。

問 2. 【専門基礎】細胞内の不必要になったタンパク質の処理には主にユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー-リソソーム系の二つのシステムが関与している。それぞれのシステムの概要とその役割を説明せよ。
(25 点)

【回答例】

1. ユビキチン-プロテアソーム系

この系は主に短命なタンパク質や異常なタンパク質の分解に関与している。

・ユビキチン化: 不必要なタンパク質はユビキチンという小さなタンパク質が付加されることでタグ付けされる。この過程はユビキチン活性化酵素 (E1)、ユビキチン結合酵素 (E2)、ユビキチンリガーゼ (E3) の三段階で行われる。一連のユビキチンが連なってポリユビキチン鎖が形成されると、これがプロテアソームによって認識される。

・プロテアソームによる分解: ユビキチン化されたタンパク質は、26S プロテアソームという巨大な酵素複合体に運ばれる。プロテアソームはタンパク質をペプチドやアミノ酸に分解し、再利用可能な形にする。

2. オートファジー-リソソーム系

この系は主に長寿命のタンパク質、大きなタンパク質複合体、さらには細胞小器官の分解に関与している。

・オートファジーの誘導: 栄養飢餓やストレスなどの条件下で、細胞はオートファジーを誘導する。オートファゴソームという二重膜構造が形成され、分解対象のタンパク質や細胞小器官を取り囲む。

・リソソームとの融合: オートファゴソームはリソソームと融合してオートリソソームを形成する。リソソーム内にはさまざまな加水分解酵素が存在し、取り込まれた物質を分解する。

問 3. 【専門】核多角体病ウイルス (Nuclear Polyhedrosis Virus, NPV) は、昆虫に感染するウイルスで、増殖過程において出芽ウイルス (Budded Virus, BV) と包埋体由来ウイルス (Occlusion-Derived Virus, ODV) の 2 種類のウイルス粒子を生産する。これらのウイルス粒子は遺伝子型が同一だが、表現型が異なり、それぞれの機能や役割も異なる。それぞれのウイルス粒子について説明せよ。(25 点)

【回答例】

出芽ウイルス (BV)

- ・生成場所: 感染初期に感染細胞の細胞膜から出芽することで生成される。
- ・構造: エンベロープ (脂質膜) を持ち、膜タンパク質が含まれている。ウイルス粒子内部には核カプシド (核酸を包むタンパク質) が含まれている。
- ・感染経路: 主に細胞間の感染を行う。感染細胞の細胞膜から出芽し、他の細胞に感染するため、細胞内でのウイルスの拡散に重要である。
- ・役割: ウイルスが初期に宿主細胞に感染を広げるために機能する。細胞間の伝播を担うため、迅速な感染拡大が可能である。

包埋体由来ウイルス (ODV)

- ・生成場所: 感染後期に細胞核内で生成され、核多角体 (ポリヘドロン) と呼ばれる結晶構造に包埋される。
- ・構造: 多層のタンパク質外殻 (ポリヘドロン) に包まれており、外殻は高い耐久性を持っている。ODV 自身はカプシドとそれを包むエンベロープを持つ。
- ・感染経路: 主に口から摂取された際に昆虫の消化管で活性化され、感染が開始される。宿主昆虫の体内で細胞外に放出されると、昆虫が他の昆虫に感染するための主要な形態である。
- ・役割: 昆虫の外部環境での生存と新しい宿主への感染に重要である。昆虫の幼虫がウイルスを摂取することで感染が成立する。

BV と ODV はそれぞれ異なる役割を果たすため、NPV の感染戦略において重要である。BV は迅速に細胞間で感染を拡大することで初期感染を確立し、ODV は環境中での生存能力を高め、新たな宿主に感染することでウイルスのライフサイクルを維持する。この二重の戦略により、NPV は効果的に昆虫集団内での感染拡大を図る。

問4. 【専門】バキュロウイルスは、昆虫細胞に感染するウイルスであり、高い発現効率と優れた操作性から、遺伝子組み換えタンパク質の生産に広く利用されている。特に、ツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*) の細胞を宿主とする AcNPV (*Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus*) 生産系と、カイコ (*Bombyx mori*) を宿主とする BmNPV (*Bombyx mori nucleopolyhedrovirus*) 生産系の2つが代表的である。それぞれのタンパク質生産系について詳しく説明せよ。(25点)

【回答例】

AcNPV 生産系

特徴

- ・宿主細胞：ヨトウムシ(*Spodoptera frugiperda*)由来の Sf9 細胞や Sf21 細胞などの昆虫培養細胞を主に使用する。
- ・操作性：培養が比較的容易であり、遺伝子導入やウイルスの増殖、感染の制御が行いやすい。
- ・増殖性：高いウイルス増殖能力を持ち、外来遺伝子の安定した発現が可能である。
- ・発現効率：適度な発現効率を持ち、多くの異種タンパク質の生産に使用されている。

利点

- ・汎用性：多様な昆虫細胞で使用可能であり、広範なタンパク質の発現に対応できる。
- ・生産規模：容易に大規模培養が可能で、商業的なタンパク質生産にも適している。
- ・コスト：細胞培養のコストが比較的安く、研究および産業応用に向いている。

用途

- ・研究：構造解析用タンパク質やワクチン候補の生産。
- ・産業：昆虫細胞を使用したバイオ医薬品の製造。

BmNPV 生産系

特徴

- ・宿主：カイコ（*Bombyx mori*）を主な宿主とし、カイコ胚細胞や幼虫を使用する。
- ・操作性：カイコ幼虫や卵の管理が必要であり、やや複雑な操作が伴う。
- ・増殖性：高いウイルス増殖能力を持ち、特にカイコを宿主とする場合に非常に高いタンパク質生産量が期待できる。
- ・発現効率：カイコ幼虫を用いることで、非常に高い発現効率が得られる。

利点

- ・高発現：カイコの宿主を用いることで、大量のタンパク質を短期間で生産可能である。
- ・天然修飾：昆虫細胞での翻訳後修飾が哺乳類細胞に近い形で行われるため、機能的なタンパク質が得られやすい。
- ・スケールアップ：カイコの大量飼育が可能であり、産業規模での大量生産に適している。

用途

- ・研究：構造生物学や機能解析に必要な大量のタンパク質生産。
- ・産業：高発現が求められるバイオ医薬品やワクチンの大量生産。

これらの生産系は、それぞれの利点を生かして適切な用途に応じた選択が行われる。AcNPV は汎用性が高く、多様な研究に広く使用され、BmNPV は特に高発現が必要な場合や大規模生産に適している。

問 1. 昆虫食科学分野で研究するために必要な基礎的な分子生物学・生化学の知識を問う。

問 2. 昆虫食科学分野で研究するために必要な基礎的な分子生物学・生化学の知識を問う。

問 3. 昆虫食科学分野で研究するために必要な専門的な昆虫ウイルス学の知識を問う。

問 4. 昆虫食科学分野で研究するために必要な専門的な応用昆虫ウイルス学の知識を問う。