

[生化学・分子生物学Ⅱ (専門)] (全2題)

[問題1] 次の文章を読み、問A～Eに答えよ。

ある生体試料を摩砕・均質化 (ホモジェナイズ, homogenize) したのからタンパク質の精製を行った。複数の精製段階を経て最後に陰イオン交換クロマトグラフィー (anion-exchange chromatography) を行い、カラムに結合したタンパク質を、NaCl の濃度勾配をかけて溶出した。溶出の過程は 230 nm と 280 nm の吸光度の測定により追跡した。その結果、ペプチド結合に由来する 230 nm の吸収では、図1のような a, b, c の3ピークからなるクロマトグラムが得られた。これらのピークはいずれも単一のタンパク質のみを含み、それぞれのタンパク質の量はほぼ同一であった。各ピークのフラクションから一定体積量のサンプルを取り、還元剤(reducing agent)と SDS (sodium dodecyl sulfate) を加えて熱処理した後、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を行った。このゲルを CBB (coomassie brilliant blue) 染色したところ、図2のようなパターンを示した。ピーク a, b, c に含まれるタンパク質をそれぞれ、タンパク質 A, B, C とする。次にタンパク質 A, B, C に対して、それぞれ天然(native)の状態での他の手法によって分子量測定を行ったところ、各々、 300×10^3 、 50×10^3 、 70×10^3 の分子量を有しているの見積もられた。また、タンパク質 A は天然の状態では三量体(trimer)であることがわかった。

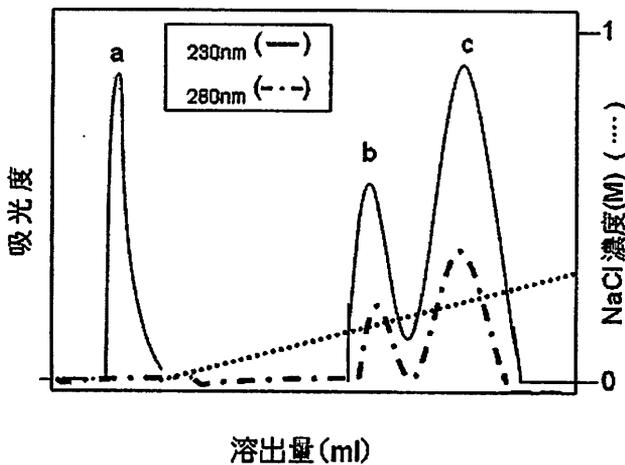


図1 陰イオン交換クロマトグラム

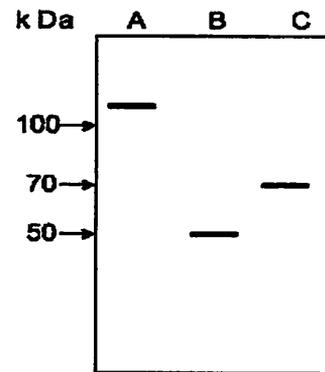


図2 SDS-PAGE

問A 図1の陰イオン交換クロマトグラフィーの結果から推測されるタンパク質Aの特徴的な性質を2つ記せ。

問B 下線部①に関して、考えられる分子量測定法を2つ挙げ、それぞれの原理を100字

程度で記せ。

- 問 C タンパク質 A は天然状態では三量体であり、 300×10^3 の分子量を有すると見積もられたが、単量体の分子量を示す SDS-PAGE では図 2 に示すように 100×10^3 より大きく見積もられた。このような結果となった原因として考えられる理由を 2 つそれぞれ 200 字程度で記せ。
- 問 D タンパク質 A のアミノ酸組成は $1/3$ が Gly, $1/4$ が Pro という特徴を有し、3 残基ごとに Gly が現れる繰り返し配列で構成されている。このタンパク質は何と考えられるか。また、その構造上の特性と機能を 200 字程度で記せ。
- 問 E タンパク質 B, C は共通の基質に対して酵素活性がある。基質濃度と反応速度との関係を調べた結果、図 3 のような曲線になった。基質に対する親和性はどちらが大きいと考えられるか。その理由とともに 100 字程度で記せ。

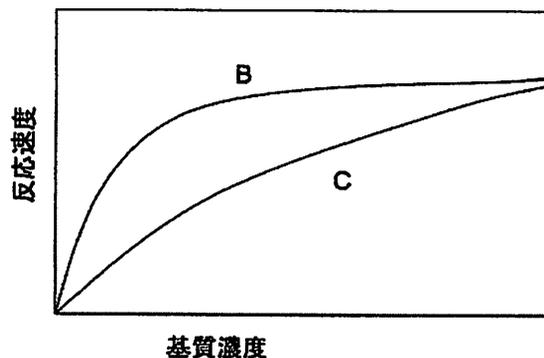


図 3 基質濃度と反応速度との関係

〔問題2〕 次の文章を読み、問 A～E に答えよ。

電子伝達系(electron-transport chain)の呼吸酵素複合体(respiratory enzyme complex)は、真核細胞においてはミトコンドリア(mitochondria)の〔a〕に存在する。ミトコンドリアの〔b〕においてクエン酸回路によって作られた NADH は NADH 脱水素酵素複合体(複合体 I)に電子を渡し、さらに複合体 I からユビキノン(ubiquinone)へと電子が移動する。還元されたユビキノンはシトクロム(cytochrome) bc_1 複合体(複合体 III)に電子を渡し、その複合体 III はシトクロム c に電子を渡す。還元されたシトクロム c はシトクロム酸化酵素複合体(複合体 IV)に電子を渡し、①複合体 IV は酸素を還元する。また、②化学浸透共役(chemiosmotic coupling)により ATP 合成が行われる。

植物細胞においては、光化学系(photosystem)や電子伝達系のタンパク質複合体は、葉緑体(chloroplast)の〔c〕に存在する。光のエネルギーによって光化学系 II は電子と正電荷(正孔)を生み出す。光化学系 II で生じた正電荷は、光化学系 II の中を移動して〔d〕のクラスター(cluster)に到達し、そこで〔e〕を酸化して消滅する。4個の正電荷により2個の〔e〕分子が酸化されると、1個の〔f〕分子と4個の〔g〕が放出される。一方、光化学系 II で生成された電子は、プラストキノン(plastoquinone)によりシトクロム b_6f 複合体へと移動する。シトクロム b_6f 複合体は、プラストシアニン(plastocyanin)に電子を渡す。光化学系 I においても光のエネルギーによって正電荷と電子が生じる。その電子はフェレドキシン(ferredoxin)を経由して、最終的にフェレドキシン-NADP 還元酵素による NADPH 合成に利用される。正電荷はプラストシアニンが運んできた電子と結合し消滅する。葉緑体における ATP 合成は、ミトコンドリアと同様に化学浸透共役により行われる。光合成で作られた ATP と NADPH は葉緑体の〔h〕にある炭素固定回路(carbon fixation cycle)を駆動する。炭素固定反応は、③リブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ(RuBisCO)が触媒する。

問 A 〔a〕～〔h〕に適切な語句を入れよ。

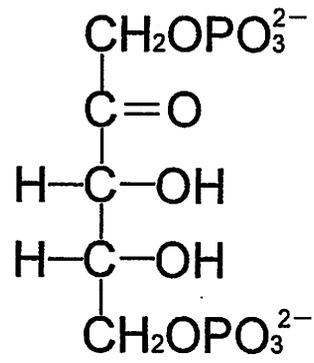
問 B 下線部①で記述した酸素還元が、複合体 IV により触媒される利点を 100 字程度で説明せよ。

問 C 下線部②に記した「化学浸透共役」を 100 字程度で説明せよ。

問 D 植物の光合成で二つの光化学系が使われる利点を 100 字程度で説明せよ。

問 E 下線部③に記したリブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼのはたらきにより、二酸化炭素と水分子がリブローズ 1,5-ビスリン酸(ribulose 1,5-bisphosphate)に取り込まれ、2分子の 3-ホスホグリセリン酸(glycerate 3-phosphate)が生成する。次に示すリブローズ 1,5-ビスリン酸の化学構造式にならって 3-ホスホグリセリン酸の化学

構造式を書け.



リブローズ 1,5-ビスリン酸