

[専門科目 (生化学)] (全2題)

[問題1] 次の文章を読み、以下の問A～Hに答えよ。

真核生物の①遺伝情報は、DNA配列からRNA配列に写し取られて、RNA配列からアミノ酸配列へ変換される。 遺伝子の転写は②ヒストンの修飾やDNAの修飾によって調節されている。例えば脊椎動物においては、DNA中の特定の  の  化によって転写が抑制される。タンパク質は、20種類のアミノ酸が鎖状につながった高分子であり、アミノ酸配列に従って折りたたまれる。 と呼ばれる一群のタンパク質は、他のタンパク質の折りたたみを助けている。正しく折りたたまれたタンパク質は、細胞内外の刺激に応じて機能や相互作用が調節され、さまざまな細胞応答を引き起こす。一方で、折りたたみに失敗したタンパク質や不必要なタンパク質は分解される。細胞内のタンパク質量は合成と分解によって調節されている。

タンパク質の分解にはユビキチン化が関与する。③ユビキチンのカルボキシ末端は、分解を受けるタンパク質のリシン残基のε-アミノ基と共有結合する。 ユビキチンの48番目のリシン残基のε-アミノ基に、別のユビキチンのカルボキシ末端が結合することでポリマーを形成し、このポリユビキチン鎖が分解シグナルになる。ユビキチン化されたタンパク質は④円筒の両端にふたがついた構造をもつ巨大なタンパク質分解酵素複合体によって認識されて⑤分解される。 タンパク質の機能の調節に関して、分子スイッチとして働く細胞内のある種のシグナルタンパク質は、⑥タンパク質キナーゼと⑦タンパク質ホスファターゼの働きによって活性型と不活性型が切り換えられる。

問A 空欄  ～  に入る適切な語句を答えよ。

問B 下線①のように、遺伝子発現の過程が多段階で起こる利点を50字程度で説明せよ。

問 C 下線②に関して、以下の (a) ~ (c) に答えよ。

- (a) 化学修飾を受けるヒストンのアミノ酸残基を答えよ。
- (b) (a) で挙げたヒストンのアミノ酸残基が受ける化学修飾を二つ挙げよ。
- (c) (b) で挙げたヒストンにおける二つの化学修飾の効果をそれぞれ 30 字程度で説明せよ。

問 D 下線③の結合の名称を答えよ。

問 E 下線④に関して、以下の (a) および (b) に答えよ。

- (a) この複合体の名称を答えよ。
- (b) タンパク質分解の活性中心の位置に着目して、このタンパク質分解酵素複合体による分解の特徴を 100 字程度で説明せよ。

問 F 下線⑤に関して、以下の (a) ~ (c) に答えよ。

- (a) 細胞小器官やタンパク質を、膜で囲ってまとめて分解する真核生物に備わる仕組みの名称を答えよ。
- (b) (a) に関わり、一般的に動物細胞内のタンパク質分解に働く細胞小器官の名称を答えよ。
- (c) (b) で挙げた細胞小器官の特徴を 50 字程度で説明せよ。

問 G 下線⑥に関して、以下の (a) ~ (c) に答えよ。

- (a) リン酸基の供与体となる低分子化合物の名称を答えよ。
- (b) (a) で挙げた低分子化合物の化学構造式を記せ。
- (c) この酵素によりリン酸化を受ける主要なアミノ酸残基を三つ挙げよ。

問 H 下線⑦に関して、この酵素が行う反応はどのようなものかを 50 字程度で説明せよ。

[問題 2] 次の文章を読み、以下の問 A ~ E に答えよ。

小胞体は、真核細胞に存在する①細胞小器官の一つであり、一般に管状や扁平な袋状の構造体が連結して  状の構造をつくる。小胞体は、細胞質側表面に  の付着した粗面小胞体と、付着していない  小胞体に区別される。小胞体は以下に挙げる様々な機能をもつ。② (i) 分泌タンパク質・膜タンパク質等の合成・輸送：分泌タンパク質などは、合成にともない小胞体内腔に移行し、小胞体からゴルジ体を経て細胞表層やエンドソームへと輸送される。(ii) 脂質の合成：リン脂質や  が合成される。③ (iii) Ca<sup>2+</sup> 調節：細胞内情報伝達に重要な役割をもつ Ca<sup>2+</sup> を貯蔵・放出する。このような小胞体の機能には、多くの④小胞体タンパク質が関与している。

問 A 空欄  ~  に入る適切な語句を答えよ。

問 B 下線①に関して、核以外で独自のゲノム DNA をもつ細胞小器官の名称を二つ挙げよ。

問 C 下線②に関して、以下の (a) ~ (c) に答えよ。

- (a) 小胞体からゴルジ体へ、およびゴルジ体からエンドソームへのタンパク質輸送に関わる輸送小胞の名称をそれぞれ記せ。
- (b) 本来小胞体内腔で働く可溶性タンパク質が小胞体から抜け出てゴルジ体へと輸送された場合には、小胞体へと回収される。この機構について 100 字程度で説明せよ。
- (c) 小胞体とゴルジ体ではタンパク質への糖鎖の付加と修飾が起こる。タンパク質における糖鎖の役割を二つ挙げよ。

問 D 下線③に関して、筋肉の収縮に関する以下の文章の空欄

~  に入る適切な語句または記号を答えよ。

神経からのシグナルは筋細胞膜に **e** 電位を生じさせる。 **e** 電位により **f** 管の  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルが活性化して開き、  $\text{Ca}^{2+}$  が細胞質ゾルに流入すると、 **g** の  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルが開き、 **g** 内腔から細胞質ゾルに大量の  $\text{Ca}^{2+}$  が流れ込む。細胞質ゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  が、 **h** の構造変化を引き起こす。その結果、筋肉のアクチンと **i** が相互作用できるようになり、収縮が起こる。

問 E 下線④に関する次の文章を読み、以下の (a) ~ (d) に答えよ。

小胞体の単量体タンパク質 X および Y がどのような状態（配置）で小胞体に存在するかを調べるために、以下の二つの実験を行った。

**【実験 1】** X および Y の C 末端側に特異的抗体により認識されるタグ配列が付加した X (X-tag と表示) および Y (Y-tag と表示) を発現させた。この細胞をホモジナイザーで破碎後、遠心分離により小胞体膜画分（反転していない小胞となっている）を回収し、一部を

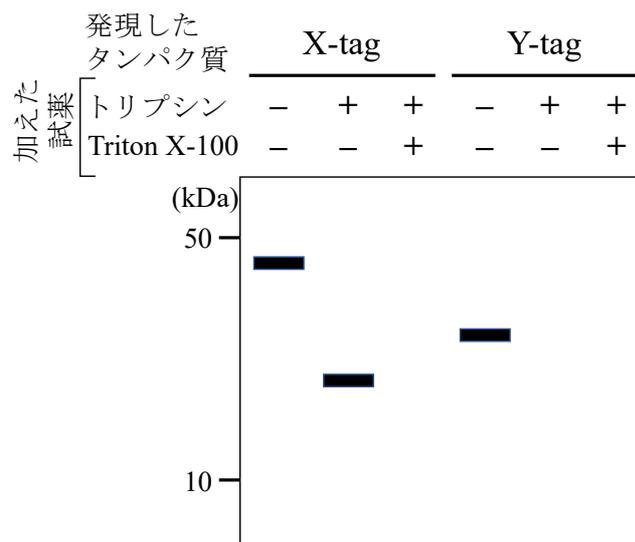


図1 実験 1 におけるタグ抗体を用いたイムノブロッティングの結果

非イオン性界面活性剤 Triton X-100 (1%) 存在下あるいは非存在下でタンパク質分解酵素トリプシンにより処理した後、トリプシンを特異的阻害剤処理により失活させた。そこからタンパク質を抽出し、イオン性界面活性剤 SDS (2%) を含むリン酸緩衝液に溶解して 100 °C で 5 分間加熱後、ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) と上記タグに対する抗体を用いたイムノブロッティングで解析したところ、図 1 に示す

結果を得た。

**【実験 2】** 次に、上記で調製した小胞体膜画分（トリプシン処理をしていないもの）を  $1 \text{ mol L}^{-1}$  の NaCl を含む緩衝液に懸濁（NaCl 処理）した後、遠心分離により沈殿（小胞体）と上清に分け、それぞれからタンパク質を抽出し、実験 1 と同様に SDS-PAGE とイ

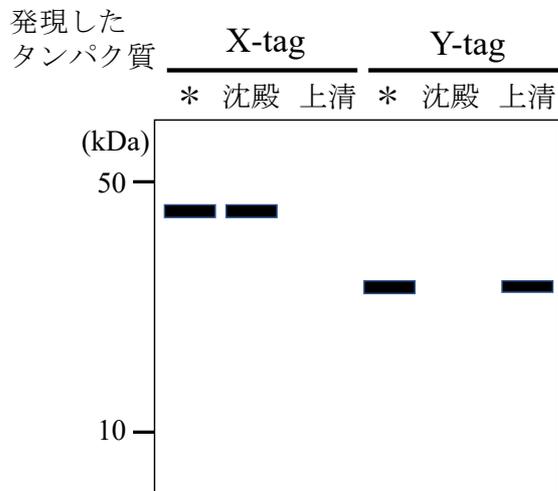


図2 実験 2 におけるタグ抗体を用いたイムノブロッティングの結果

ムノブロッティングで解析したところ、図 2 に示す結果を得た(\*には、NaCl 処理をする前の小胞体画分から抽出したタンパク質を泳動した)。

- SDS と Triton X-100 が、生体膜およびタンパク質の構造に与える影響について、100 字程度で説明せよ。
- トリプシンの切断特異性について簡潔に説明せよ。
- 実験 1 および 2 の結果から、タンパク質 X はどのような状態（配置）で小胞体に存在していると推定されるか、推定した根拠とともに 200 字程度で答えよ。
- 実験 1 および 2 の結果から、タンパク質 Y はどのような状態（配置）で小胞体に存在していると推定されるか、推定した根拠とともに 100 字程度で答えよ。