

平成 21 年度 入 学 試 験 問 題

生物化学専攻 専門科目 指 定 問 題

[注意事項]

1. 試験開始の合図があるまで、この問題冊子をひらいてはならない。この冊子は、表紙を含めて計9頁からなる。
2. 解答には、必ず黒色鉛筆（または黒色シャープペンシル）を使用すること。

[以下、特に重要]

3. 問題は全部で4問ある。その4問すべてに解答せよ。
4. 答案用紙は、各問につき1枚、合計4枚配布してあるから、確実に配布されていることを確かめること。
5. 各答案用紙の所定欄に、科目名（指定問題）・問題番号・受験番号および氏名を必ず記入すること。
6. 解答は、各問ごとに所定の答案用紙を使用すること。
7. 答案用紙は、採点の際、点線で切り取られるので、裏面も使用する場合には、点線の上部を使用しないこと。
8. 答案用紙には、解答に関係ない文字、記号、符号などを記入してはならない。
9. 解答できない場合でも、答案用紙に科目名・問題番号・受験番号および氏名を記入して提出すること。
10. 答案用紙を草稿用紙に絶対使用しないこと。（草稿用紙は問題より後の頁にある。また問題冊子の余白は自由に使ってよい。）

この問題冊子は試験終了後に回収します。以下の欄に受験番号と氏名を記入すること。

受験番号		氏名	
------	--	----	--

[第1問]

次の文を読み、問題(1)～(7)に答えよ。

ATPは、生体エネルギーとしての機能をはじめとして細胞内外でさまざまな役割をもつ、生命に必須の分子である。

(問題)

- (1) ATPの構造式を書け。
- (2) 正常な生細胞(たとえば、肝細胞)の細胞質のATP濃度はどれほどか。次の中から最も適当なものを選べ。
(a) 3 μM 、(b) 30 μM 、(c) 0.3 mM、(d) 3 mM、(e) 30 mM
- (3) ATPがADPに加水分解される反応の標準ギブズ自由エネルギー変化はどれほどか。次の中から最も適当なものを選べ。但し、単位は kJ mol^{-1} で示した(1 kJは約0.24 kcal)。
(a) -310、(b) -31、(c) -3.1、(d) -0.31、
(e) 0.31、(f) 3.1、(g) 31、(h) 310
- (4) 解糖系において、グルコースからピルビン酸を生じるまでの過程は数多くの酵素反応から成る。この中でATPを消費する反応とATPを生成する反応の数は、それぞれいくつあるか。また、1モルのグルコースがピルビン酸になる過程で生じるATPは正味で何モルか。
- (5) ATPを基質(あるいは、基質の一つ)として加水分解し、生成物としてピロリン酸(PPi)を生じる反応を触媒する酵素の名称を一つ記せ。
- (6) ATPには細胞外リガンド(情報伝達物質)としての働きもあり、ヒトには10種類以上のATP受容体が存在する。これらは、構造や作用の点で2つのタイプに大別される。この2つのタイプについて、それぞれ1～2行で説明せよ。

(7) ATP は、さまざまな細胞内酵素の活性を制御するアロステリックエフェクターとしての作用も持つ。その一例である大腸菌のアスパラギン酸カルバモイルトランスフェラーゼ（アスパラギン酸トランスカルバミラーゼ）は、ピリミジン生合成系の初期過程に位置する重要な酵素であり、ATPのほか CTP によっても活性が変化する（図1を参照）。

- (a) この反応の正のエフェクターと負のエフェクターはそれぞれ何か。
- (b) 三つの状態（曲線 A、B、および C）を基質（アスパラギン酸）への親和性が高い順に並べよ。
- (c) A の状態の反応（曲線 A）がミカエリス-メンテンの式にしたがうとして、およその K_M 値を図1の曲線から推定せよ。
- (d) ATP や CTP によるこのような制御の生物学的（生理学的）な意義を推測して、2～3行で述べよ。

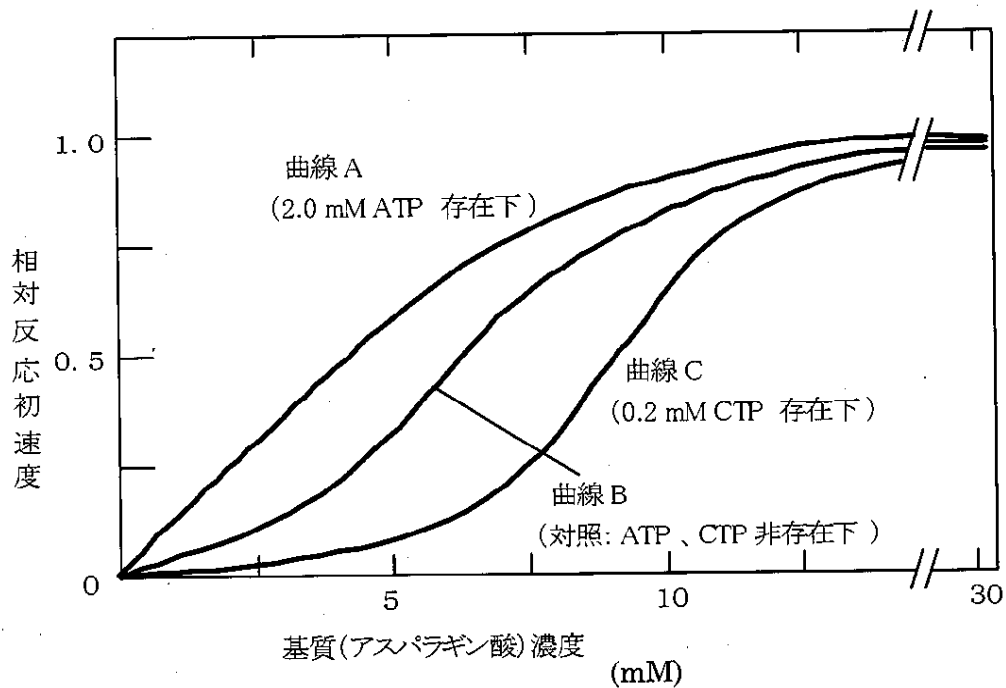


図1. 大腸菌アスパラギン酸カルバモイルトランスフェラーゼの反応速度

[第2問]

次の文を読み、問題(1)～(6)に答えよ。

A君は、株化培養細胞を物質Bで刺激した時に、非刺激時には主に細胞質に存在するタンパク質Cが核移行する可能性と、核タンパク質Dの量的変化を調べようと考えた。複数枚数の10cm径シャーレにいずれもconfluentになるように同じように培養した細胞に対し、半数のシャーレには物質Bを含む少量の培地を添加し(これらを刺激細胞群と呼ぶ)、残り半数のシャーレには同じ容量の培地だけを加えた(対照細胞群と呼ぶ)。これらの細胞をさらに6時間培養した後、両群の細胞を別々に遠心管に集め、その後、遠心操作を含む一連の作業によってそれぞれの細胞質成分(画分)と核成分(画分)を抽出した^(a)。これらの画分をSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、引き続き、タンパク質CとDをそれぞれ特異的に認識する抗体を用いたウェスタンブロットによって、両群の間でCとDの量をそれぞれ比較しようとした。この時、電気泳動にかける試料のタンパク質量を一定にするため、刺激細胞群と対照細胞群の細胞質画分の一定量を緩衝液で一定の倍率に希釈してから280nmにおける吸光度を測定し^(b)、両者の吸光度が同じになるように一方を希釈したのち、両試料の一定容量を電気泳動した。一方、核画分についてはタンパク質量が少なくて定量できなかったので、細胞質画分を希釈したのと同じ希釈倍率で一方を希釈し、両者の一定量を電気泳動した^(c)。最終的には、この泳動ゲルのウェスタンブロット解析において蛍光物質でラベルされた二次抗体を用い、蛍光バンドの発光強度を定量する事により、タンパク質Cの細胞質画分と核画分における含有量とタンパク質Dの核画分の含有量を両群の間で比較した^(d)。

- (1) 下線部(a)の分画操作がうまくできている事を確認するためには、どのような実験を行えば良いか？
- (2) 下線部(b)でA君は、ダブルビーム型分光光度計を用いて両群の細胞質画分の吸収スペクトルを記録した。具体的には、試料と同じ組成の緩衝液を対照側キュベットに入れてホルダーにセットした後、両群の細胞質画分希釈液を順次、試料側キュベットに入れて分光測定した結果、図1に示す吸収スペクトルが得られた。しかし、この2本のスペクトルの280nmにおける吸光度から両群のタンパク質量を比較するのは適切ではないと考えられる。その理由と、A君の分画操作に何か適切でない操作があったとしたらどのような可能性が考えられるか、併せて3行以内で記せ。また、280nmの吸光度測定の外にタンパク質を定量する方法を一つ記せ。

- (3) 下線部(c)の操作だけに基づいて、刺激に伴うタンパク質 C や D の核内量の変化を推定するのは危険である。その理由を 2 行以内で記せ。また、このような場合、電気泳動後に、どのような実験操作を行なえば良いと考えられるか、追加すべき実験を 2 行以内で記せ。
- (4) 下線部(d)において、タンパク質 C や D の各画分における量を推定するためには、各バンドの蛍光強度に定量性があることを確かめる必要がある。そのための具体的な実験操作を 2 行以内で記せ。
- (5) 核タンパク質 D はモノマーとして存在することが知られており、自由拡散では核に入れないほど大きな分子である場合、タンパク質 D はどのような構造的特徴を持つと考えられるか、また、そのような分子が核内に移行する分子メカニズムを 5 行以内で解説せよ。
- (6) ダブルビーム型分光光度計を上から見たときの構造の概略を、光源からの光路と共に図示せよ。また、この分光光度計による吸収スペクトルの測定において機能的に重要な部品とその役割を図の中に記し、透過度と吸光度の関係に言及しながら、吸収スペクトルの測定原理を解説せよ。

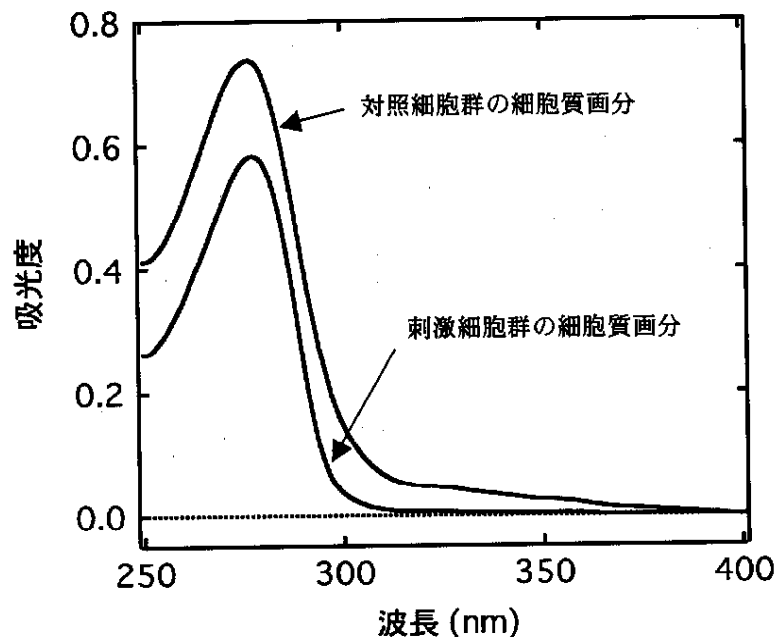


図 1. 刺激細胞群と対照細胞群の細胞質画分の希釈液の吸収スペクトル

[第3問]

次の文章を読み、問題（1）～（7）に答えよ。

クロマチンの構成タンパク質のうちで最も主要なものはヒストンである。ヒストンのまわりにDNAが約2回巻き付いた単位をヌクレオソームと呼ぶ。細胞周期の分裂期には、繊維状のクロマチンが高次に折りたたまれ、よりコンパクトな染色体の構造をとる^(a)。また、間期にも凝集しているクロマチンは[A]クロマチンと呼ばれ、それ以外の真性クロマチンと区別される。一方、ヒストンは遺伝子転写制御に密接に関わっている。たとえば転写活性が高い遺伝子のプロモーター近傍領域には、特異的転写因子が結合し^(b)、ヒストン構成因子の化学修飾^(c)が誘起され、ヌクレオソーム構造が変化する^(d)。その結果、基本転写装置が転写開始点近傍領域に会合して、転写が開始する^(e)。

(問題)

- (1) 文中の [A] に入る語句を記述せよ。また、[A] クロマチンは染色体のどのような部位に見られるか、一例をあげよ。
- (2) 細胞からクロマチンを調製して、DNase で軽く処理したのちに、DNA を精製して電気泳動により解析すると、ラダー状の泳動パターンを示した。なぜ DNA がラダー状の泳動パターンを示すのか、4行以内で具体的に説明せよ。
- (3) 下線(a)について、染色体は分裂期に高度に凝集した構造をとり、一方、間期に弛緩する必要がある。その生物学的意義を4行以内で述べよ。
- (4) 下線(b)について、特異的転写因子が結合する配列を何というか。
- (5) 下線(c)について、転写の活性を制御するヒストンの主要な化学修飾の名称を2つ記せ（但し、リン酸化とユビキチン化を除く）。また、その修飾状態を、修飾されるアミノ酸の構造と共に化学構造式で記せ。
- (6) 下線(d)について、転写が誘導されるときに、ヌクレオソーム構造がどのように変化するか、その代表的な一例を2行以内で記述せよ。

- (7) 下線(e)について、基本転写装置の構成因子を2つ述べよ。また、この基本転写装置のリクルートに直接関わる代表的な DNA 配列を何とよいか。

[第4問]

次の文を読み、問題(1)～(5)に答えよ。

哺乳類の性染色体はXとYから構成されている。雌はXX染色体をもち、雄はXY染色体を持つ。すなわち、雌の持つX染色体の量は雄の2倍である。Y染色体は性決定や精子形成にかかわる遺伝子が数十個程度あるだけであるが、X染色体には生存に必須なものを含め1000個以上もの遺伝子がある。そのため、雌雄間でX染色体上の遺伝子の発現量の差を補正する機構が存在し、X染色体不活性化と呼ばれる。哺乳類の雌では2本あるX染色体の1本を不活性化し、機能するX染色体の数を雄と同じ1本にする。多くの細胞では、不活性化されるX染色体は、2本のX染色体からランダムに選択される。また、哺乳類の常染色体上の遺伝子は父親と母親に由来する遺伝子が共に働いている。しかし、特定の遺伝子においては、父親由来または母親由来のどちらの対立遺伝子が機能するかが決まっており、ゲノムインプリンティング(遺伝的刷り込み)と呼ばれる。X染色体不活性化やゲノムインプリンティングにおける遺伝情報の発現調節は、DNA塩基配列の突然変異による遺伝的变化ではなく、DNA塩基配列の変化を伴わずに遺伝子の機能を変化させる機構であり、[A]と呼ばれる。この調節機構には、DNAのメチル化やヒストンタンパク質の化学修飾が関わっていることが知られている。

(問題)

(1) 哺乳類において、X染色体不活性化を制御する染色体上の場所を何というか。また、不活性化されるX染色体からのみ発現される遺伝子を1つ挙げ、この遺伝子の特徴を1行で答えよ。

(2) 文中の[A]に入る語句を記述せよ。

(3) 下線部について以下の問に答えよ。

(a) 哺乳類においてメチル化が起こることが知られている代表的な塩基の名前とメチル化後の構造式を記せ。

(b) 上記(a)の塩基のメチル化が多く見られる塩基配列を記せ。また、このような配列は、ハウスキーピング遺伝子のプロモーター周辺などの特定の領域に多く見られるが、この領域は何と呼ばれるか答えよ。

- (c) DNA のメチル化は、細胞が分裂する際も継承される。DNA 複製時におけるメチル化パターンの維持に必要な酵素の名前を答えよ。
- (4) マウスの生存に必須であり、ゲノムインプリンティングを受ける遺伝子 B について、父親あるいは母親のどちらに由来した（対立）遺伝子 B が働いているのかを調べる方法を1つ答えよ。
- (5) X 染色体不活性化の場合は、父親由来または母親由来のどちらかの X 染色体が不活性化される。また、ゲノムインプリンティングにおいては、父親由来あるいは母親由来のどちらかの対立遺伝子が不活性化される。どちらの染色体あるいは対立遺伝子が不活性化されるかは、それぞれ異なる、ある時期のある細胞で決定されると考えられる。この決定は、生殖細胞形成過程から受精、およびその後の初期発生の過程のうち、いずれの時期に起こると考えられるか。その理由も含めて、X 染色体と対立遺伝子の場合を対比させて5行程度で述べよ。