

# 平成 22 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、この問題冊子を開かないこと。
2. 問題冊子は、表紙および余白を含めて計 14 頁からなる。試験開始後、落丁、乱丁等に気づいた場合は、速やかに申し出ること。
3. 第 1 問から第 4 問まで出題されている。その 4 問の全てに 解答すること。
4. 答案用紙は合計 4 枚を配布してある。正しく配布されているか、確かめること。
5. 解答には、黒色鉛筆または黒色シャープペンシルを使用すること。
6. 各問につき 1 枚の答案用紙を用いて解答すること。
7. 各答案用紙の所定欄に、科目名（指定問題）、問題番号（1～4）、受験番号および氏名を記入すること。
8. 答案用紙は、採点の際、点線にそって切り離される。裏面も使用する場合には、点線より上部を使用しないこと。
9. 全く解答できない問題があった場合でも、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. 問題冊子の余白は、草稿に使用してよい（採点の対象にはならない）。答案用紙は草稿に使用しないこと。
11. 答案用紙には、解答に関係ない文字、記号、符号などを記入しないこと。

この問題冊子は試験終了後に回収する。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）～（８）に答えよ。

真核生物や細菌の生体膜は、規則正しく並んだ脂質に、タンパク質等の分子が含まれる「脂質二重層」によって構成されている。

（問題）

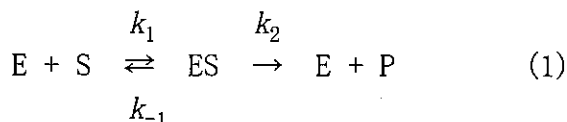
- （１）真核生物の生体膜脂質の主成分となる脂質のうち３種の名称を記せ。
- （２）真核生物の生体膜を構成する脂質が二重層を形成するのはなぜか。  
３行程度で記せ。
- （３）真核生物の脂質二重層の基本構造を図示せよ。
- （４）流動モザイクモデルとは何か。３行程度で記せ。
- （５）生体膜の流動性と相転移温度の関係について、「炭化水素鎖」および「コレステロール」という単語を用いて述べよ。
- （６）膜タンパク質が生体膜を貫通する部分には、どのような構造的特徴があるか。３行程度で記せ。
- （７）膜タンパク質と脂質二重層のみから構成される系では、膜タンパク質は自由拡散できるが、実際には、ほとんど拡散しないものもある。その原因としてどのようなことが知られているか。３行程度で記せ。
- （８）真核細胞において、糖脂質は細胞膜（細胞質膜）の外側と内側のどちら側に存在するか、また、その理由は何か。合わせて３行程度で記せ。



[第2問]

次の文を読み、問題(1)～(6)に答えよ。

酵素は、化学反応の遷移状態を安定化することにより活性化エネルギーを下げ、反応速度を著しく上昇させる。このように、酵素は極めて触媒活性が高いため、生体内で様々な調節を受ける。その一つに阻害剤による制御がある。酵素を E、基質を S、生成物を P とし、酵素反応は、



と表される。ここで、ES 複合体の解離・会合は、迅速平衡にあると仮定する。酵素の阻害剤 I は、遊離した酵素と結合し、活性化を阻害するものとする。その平衡は、



と表される。(1)の反応のミカエリス定数を  $K_m$ 、酵素と阻害剤の解離定数を  $K_i$  とおくと、

$$K_m = \boxed{\text{(a)}} \\ K_i = \boxed{\text{(b)}}$$

と書ける。(a)、(b)より  $[E] = \boxed{\text{(c)}} [ES]$ 、 $[EI] = \boxed{\text{(d)}} [ES]$ であるから、

これらを質量保存の法則  $[E]_0 = [E] + [ES] + [EI]$  に代入すると、

$$[E]_0 = \boxed{\text{(e)}} [ES]、[ES] \text{について解くと、} [ES] = \boxed{\text{(f)}} \text{となる。}$$

酵素の反応速度は  $v = k_2[ES]$  であり、 $k_2[E]_0 = V_{\max}$  であるから、

$v = \boxed{\text{(g)}}$ 、Lineweaver-Burk の逆数プロットの形に直すと、

$$1/v = \boxed{\text{(h)}} \text{となる。}$$

(問題)

- (1) 上記の文の(a)～(h)を[E]、[S]、[I]、[ES]、[EI]、 $K_m$ 、 $K_i$ 、 $V_{max}$ を用いて示せ。
- (2) 阻害剤の濃度が0の時に基質の初濃度を変えて産物の生成する初速度  $v$  を測定したところ、図1のようになった。この酵素の  $V_{max}$ 、 $K_m$  を求めよ。与えられたグラフ用紙を用いること。
- (3) 阻害剤の濃度を上げていくと、Lineweaver-Burk の逆数プロットは図2のようになった。このような阻害形式を何というか。また、この阻害剤の  $K_i$  を求めよ。与えられたグラフ用紙を用いて考え方も記すこと。
- (4) 臓器から抽出したある酵素は、酢酸 *p*-ニトロフェニルを加水分解する活性を持ち、diisopropylphosphorofluoridate (DFP) や phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) で活性が失われる。また、図3の tosylphenylalanyl chloromethyl ketone (TPCK) によって特異的に修飾され失活する。この酵素の活性部位で働き、阻害剤と反応したアミノ酸残基は何であると考えられるか。その構造式を示せ。
- (5) この酵素の変異体を作成し、基質との複合体の X 線結晶構造解析を行った結果、野生型の酵素に比べ、酵素と基質との間で水素結合が2つ、van der Waals 相互作用が1つ欠失していた。この変異が触媒残基には影響を与えないものと考えた場合、この変異体の触媒効率  $k_{cat}/K_m$  は野生型の何分の1になると予想されるか。ただし、水素結合1つ分の結合エネルギーを1.5 kcal/mol、van der Waals 相互作用1つ分の結合エネルギーを1.0 kcal/mol とし、気体定数  $R$  を1.987 cal/K·mol、反応温度を34°C とし、次ページの自然対数表を用いて計算せよ。
- (6) この酵素は生体内で通常働かないように制御を受けている。その制御と活性化の機構としてどのようなものが考えられるか。8行程度で記せ。

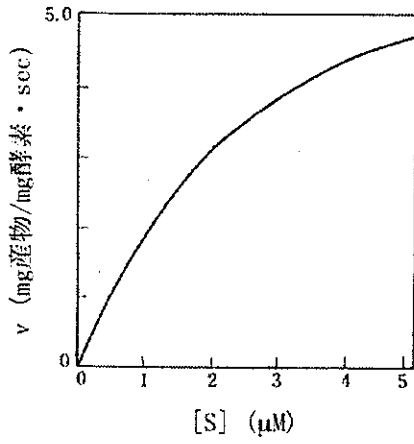


図 1. 基質の初濃度と酵素反応速度の関係

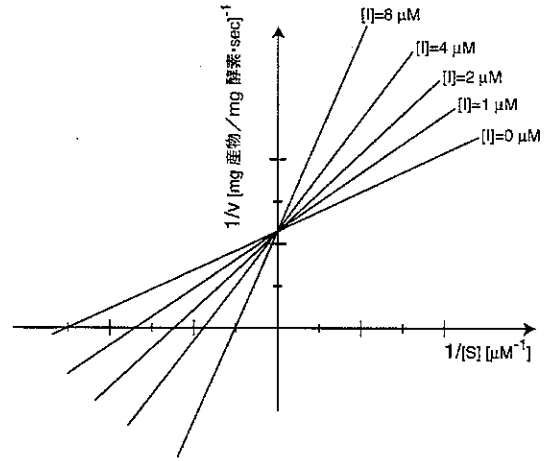


図 2. 阻害剤の濃度に依存した Lineweaver-Burk の逆数プロット

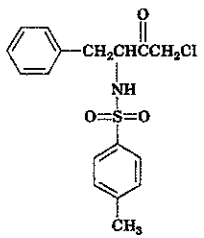


図 3. TPCK の構造式

自然対数表 (1.0 以上)

n	log <sub>e</sub> n	n	log <sub>e</sub> n	n	log <sub>e</sub> n	n	log <sub>e</sub> n
1.0	0.00000	3.0	1.09861	5.0	1.60944	25.0	3.21887
1.1	0.09531	3.1	1.13140	6.0	1.79176	26.0	3.25809
1.2	0.18232	3.2	1.16315	7.0	1.94591	27.0	3.29583
1.3	0.26236	3.3	1.19392	8.0	2.07944	28.0	3.33220
1.4	0.33647	3.4	1.22377	9.0	2.19722	29.0	3.36729
1.5	0.40546	3.5	1.25276	10.0	2.30258	30.0	3.40119
1.6	0.47000	3.6	1.28093	11.0	2.39789	40.0	3.68888
1.7	0.53063	3.7	1.30833	12.0	2.48491	50.0	3.91202
1.8	0.58779	3.8	1.33500	13.0	2.56495	60.0	4.09434
1.9	0.64185	3.9	1.36097	14.0	2.63905	70.0	4.24849
2.0	0.69314	4.0	1.38629	15.0	2.70805	80.0	4.38202
2.1	0.74193	4.1	1.41099	16.0	2.77259	90.0	4.49981
2.2	0.78845	4.2	1.43508	17.0	2.83321	100.0	4.60517
2.3	0.83291	4.3	1.45861	18.0	2.89037	200.0	5.29832
2.4	0.87547	4.4	1.48160	19.0	2.94444	300.0	5.70378
2.5	0.91629	4.5	1.50408	20.0	2.99573	400.0	5.99146
2.6	0.95551	4.6	1.52605	21.0	3.04452	500.0	6.21461
2.7	0.99325	4.7	1.54756	22.0	3.09104	600.0	6.39693
2.8	1.02962	4.8	1.56861	23.0	3.13549	700.0	6.55108
2.9	1.06471	4.9	1.58923	24.0	3.17805	800.0	6.68461



### [第3問]

転写と遺伝子発現に関する次の文1～文3を読み、問題(1)～(10)に答えよ。

[文1] 転写を行う RNA ポリメラーゼは、真核生物では RNA ポリメラーゼ I、RNA ポリメラーゼ II、RNA ポリメラーゼ III の3種類<sup>(a)</sup>が使い分けられ、原核生物では基本的に1種類の酵素が用いられている。真核生物の3種類の RNA ポリメラーゼはそれぞれ10以上のサブユニットから構成されている。RNA ポリメラーゼ II の最大サブユニットの C 末端ドメイン (CTD) は7個のアミノ酸 (YSPTSPS) が多数繰り返す特殊な構造をもち、活性の制御に重要な役割を果たすことが知られている。この部分に修飾が起こる<sup>(b)</sup>ことで、RNA ポリメラーゼの プロセッシビティ<sup>(c)</sup>が高まると考えられている。一方、原核生物の RNA ポリメラーゼは4種類のサブユニットからなるコア酵素に、プロモーターへの特異的結合を促進するサブユニットが会合して ホロ酵素<sup>(d)</sup>を構成する。このように真核生物と原核生物の RNA ポリメラーゼには一見大きな違いが存在するが、構造解析により解明された両者のコア構造には明らかな相同性が認められ、両者は基本的に同じ分子機構で RNA を転写していると理解されている。

真核生物の遺伝子の転写には RNA ポリメラーゼに加えて各種の転写因子が大きな役割を果たしている。転写因子のうち、TF II B、TF II D など、さまざまな遺伝子の転写に共通に必要とされるものは ( e ) 転写因子と総称される。転写因子は構造上の特徴からいくつかの種類に分類されるが、そのうち ( f ) とよばれる構造をもつものは、4つの ( g ) 残基、もしくは2つの ( g ) 残基と2つの ( h ) 残基により金属イオンを配位する特徴をもつ。

#### (問題)

(1) 下線部(a)に示す3種類の RNA ポリメラーゼが転写する代表的な RNA をそれぞれについて記せ。

(2) 下線部(b)の修飾とはどのようなものか、簡潔に答えよ。



(3) 下線部(c)のプロセッシビティとはどのような性質か、1行程度で記せ。

(4) 下線部(d)について、大腸菌のホロ酵素のサブユニット構成を記せ ( $x_3y_2z$ のように表記せよ)。

(5) ( e ) ~ ( h ) にそれぞれ当てはまる適切な語句を記せ。

[文2] 転写因子の性質をうまく利用した技術に酵母ツーハイブリッド法がある。この技法では、例えば酵母の転写因子 GAL4 を転写活性化ドメインと ( i ) ドメインに分割し、それぞれにタンパク質 A とタンパク質 B を融合させる。これらを酵母細胞に導入して発現させた後、GAL4 により転写が活性化される *GAL1* プロモーターにつないだレポーター遺伝子の発現量を測定する(j)。

(問題)

(6) ( i ) に当てはまる適切な語句を記せ。

(7) 下線部(j)について、2つの融合タンパク質が共存した時のみ、レポーター遺伝子の発現が見られた。このとき得られる結論は何か。1行程度で記せ。

[文3] 2つの遺伝子について、それぞれ単独で機能が失われても細胞は生育できるが、両者が同時に失われると細胞は死滅してしまう関係を合成致死という。合成致死の関係を見いだすことは、2つの遺伝子の機能を探る上で有用な情報を与えてくれる。酵母では合成致死となる遺伝子をスクリーニングする以下の方法が工夫されている。

宿主株として *ADE2* と *ADE3* 遺伝子に突然変異が入った酵母を用意する。これらの遺伝子はともにアデニン生合成のための酵素をコードしている。*ADE2* の機能がなくなると蓄積した代謝中間産物が赤い色素に変化して、細胞が形成するコロニーは赤く見える。*ADE3* の作る酵素は *ADE2* の作る酵素よりも合成

経路の上流で働くため、*ADE2*に加えて *ADE3* の機能がなくなるとこの代謝中間産物はできず、酵母は本来の色である白いコロニーを形成する。

いま遺伝子 X (アデニン合成系とは無関係な遺伝子とする) に変異が入っても、酵母細胞は生育できるとする。*ADE2* と *ADE3* の機能を欠く株にさらに遺伝子 X の変異をもたせる。この宿主株の作るコロニーの色は ( k ) のはずである。つぎに、1つのプラスミドに機能のある遺伝子 X と機能のある *ADE3* 遺伝子をとともにもたせたものを準備し、宿主株に導入する。この導入株の作るコロニーの色は ( 1 ) のはずである。しかし実際には、この株を平板培地の上で生育させると、赤と白がまだらになった (セクターを形成した) コロニーが大部分となる(m)。そこでこの株に紫外線を当てるなどして突然変異を誘起し、必ず ( 1 ) のコロニーを作るようなものを選び出す。そのとき遺伝子 Y に新たな変異が生じていたとすると、遺伝子 X と遺伝子 Y は合成致死の関係にある可能性が大きい(n)。

(問題)

(8) ( k ) と ( 1 ) にそれぞれ当てはまる適切な語句を記せ。

(9) 下線部(m)について、まだらになる理由を 3 行程度で説明せよ。

(10) 下線部(n)について、そう結論できる理由を 3 行程度で説明せよ。



[第4問]

次の文を読み、問題(1)～(6)に答えよ。

生物の体は、発生の過程で、大まかな領域に区分けされ、徐々に細部の構造が形成されていく。それらの領域は遺伝子の発現領域として発生の初期から見る  
ことができる。ここで、架空の生物である小型魚類タイガーフィッシュ(トランスジェニック体の作製が可能)について、発生の研究を行うことを考えよう。  
タイガーフィッシュの初期胚の脳では、中脳でA遺伝子が発現し、それに接する後脳ではB遺伝子が発現している(図1)。タイガーフィッシュの初期胚は透明で、  
蛍光物質で標識された脳細胞を蛍光顕微鏡で容易に観察することができる。A、B両遺伝子の変異はともに表現型を示さなかったことから、タイガーフィッシュの中脳と後脳で発現する遺伝子を網羅的に調べる(a)ことで、異なった脳の領域を形成するメカニズムを探ることにした。その結果、中脳で特異的に発現し後脳では発現しない遺伝子Xと、後脳で特異的に発現し中脳では発現しない遺伝子Yを同定し、その機能を調べた(b)。遺伝子Yの機能が阻害されると、後脳が形成されず、その場所に中脳の性質を持った脳組織が形成され、遺伝子Xもそこに発現していることが観察された(c)。遺伝子Xの機能が阻害されると、細胞死がおこり中脳は形成されなかった(d)。

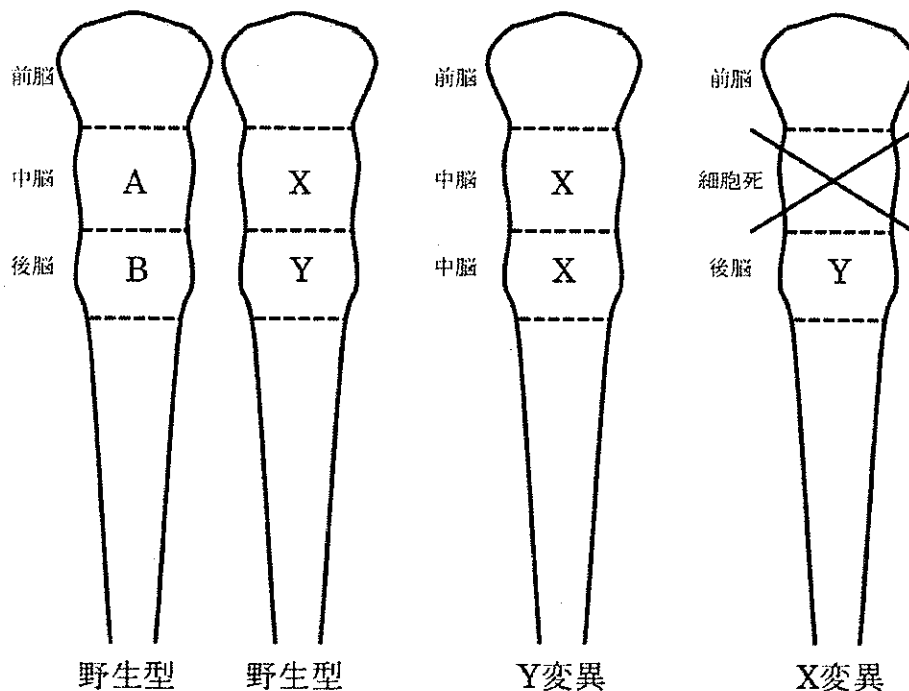


図1

野生型

野生型

Y変異

X変異

(問題)

- (1) 下線部(a)の実験を以下の語句を全て用いて1・0行程度で説明せよ。  
A 遺伝子、B 遺伝子、トランスジェニック、GFP、ポリ A(+) RNA、逆転写、cDNA、PCR、マイクロアレイ
- (2) 下線部(a)の実験を行う上で留意すべき点を2つ述べよ。
- (3) 下線部(b)の遺伝子 X および Y の働きを抑えたときの表現型を知りたい。どのような方法があるか、2つ述べよ。
- (4) 下線部(c)より、遺伝子 X と Y の遺伝的相互作用について、推測されることを述べよ。
- (5) 下線部(c)(d)より、脳形成における遺伝子 X および Y の働きについてどのような仮説が考えられるか、2行程度で述べよ。
- (6) (5) の仮説を確かめる実験を1つ考え、2行程度で述べよ。

