

平成22年度入学試験問題

生物化学専攻 専門科目

選択問題

[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16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6問まで出題されている。そのうち3問を選んで解答すること。もし4問以上解答した場合には、その全てが無効となる。
4. 答案用紙は合計3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（選択問題）、問題番号（1～6）、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）～（６）に答えよ。

緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein, GFP) は、A (学名 *Aequorea victoria*) がもつ約 27 kDa のタンパク質であり、1960 年代に下村脩によって発見および分離精製された。下村は、この発見により 2008 年にノーベル化学賞を受賞した。*Aequorea victoria* 生体内の発光物質は、B イオンを感知して緑色発光する。下村が発光細胞中の発光物質を探索したところ、化学発光物質 C を発見した。試験管内では、単離した C は、B イオン依存的に青色発光する。その後の研究により、C と GFP が複合体を形成していることが明らかになり、この複合体が B イオンの存在下で緑色発光することが判明した^(a)。*Aequorea* GFP の cDNA は 1990 年代にクローニングされ、タンパク質レベルでの研究が飛躍的に進展した。GFP は 238 個のアミノ酸残基からなるタンパク質であり、その 65～67 番目のアミノ酸残基 (Ser-Tyr-Gly)^(b) から発色団が形成される。現在、GFP は、レポーターとして用いられ、様々な生物種の *in vivo* における遺伝子の発現部位を同定したり、また、研究対象のタンパク質と GFP との融合タンパク質を細胞内で発現することによってタンパク質の局在をモニタリング^(c)するための画期的なツールとなっている^(d)。また近年、生きた細胞における酵素活性やタンパク質間相互作用を可視化する有力な技術として、GFP や改変型 GFP 等を用いた fluorescence resonance energy transfer (FRET) が注目されている。

(問題)

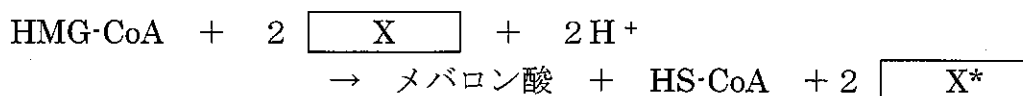
- (1) 文中の A、B、C に入る語句を記せ。なお、A には *Aequorea victoria* の和名が入る。
- (2) 下線部(a)について、複合体が青色発光ではなく、緑色発光する理由および原理を 3 行程度で述べよ。
- (3) 下線部(b)について、3 アミノ酸残基 Ser-Tyr-Gly の化学構造式を記せ。

- (4) 下線部(d)について、現在 GFP が細胞生物学的な研究に広く使用されるようになったのは、GFP のタンパク質としての特徴によるところが大きい。その特徴を2つあげ、それぞれを3行程度で説明せよ。
- (5) 下線部(c)について、GFP との融合タンパク質を用いて、分子の細胞内局在を調べる際に、エピトープタグ（HA ペプチド配列や FLAG ペプチド配列など）と比較して、GFP の弱点を2行程度で述べよ。

[第2問]

次の文を読み、問題（1）～（7）に答えよ。

スタチンと総称される薬剤は、血中コレステロール値を下げる作用を示すため、重要な薬として世界中で用いられているが、副作用を含めた他の作用も知られている。スタチンはHMG-CoA レダクターゼ（以下、HMGR）の競合阻害剤である。このHMGRは以下の反応を触媒する酸化還元酵素であり、酵母から哺乳類まで広く分布している。



この反応はコレステロール生合成の律速段階となっており、HMGRは転写、リン酸化(a)、アロステリック制御、分解など、様々なレベルでの複雑な調節を受けている。コレステロール生合成過程は、アセチル CoA を出発物質とする多段階の複雑な過程であり、HMGR の作用で生成したメバロン酸から、イソペンテニルニリン酸（炭素数 5）、ゲラニルニリン酸（炭素数 10）、ファルネシルニリン酸（炭素数 15）、スクアレン（炭素数 30）などを経て、コレステロールが合成される。酵母では、スクアレンからコレステロールではなくエルゴステロールが作られるが、分裂酵母の HMGR をコードする *hmg1+* 遺伝子は生育に必須である。また分裂酵母を用いて、HMGR の調節因子である Insig タンパク質 (*ins1+* 遺伝子産物) の機能に関する研究(b)が報告されている。

(問題)

(1) 文中の反応の $\boxed{\text{X}}$ および $\boxed{\text{X}^*}$ に入るべき物質名（略称でよい）をそれぞれ記せ。

(2) HMGR による反応が起こる細胞内領域を以下の(i)～(iv)から選べ。

- (i) 小胞体のサイトゾル側、(ii) 小胞体のルーメン（内腔）側、(iii) ミトコンドリアの膜間腔、(iv) ミトコンドリアのマトリックス（内膜の内側）

- (3) 哺乳類にはコレステロールを他の脂質分子のように無機物まで分解する経路が存在しないため、余分なコレステロールはある形に変換されて体外に排出される。一般的にどのような形で排出されるか。
- (4) 下線部(a)のリン酸化は、哺乳類細胞では AMPK と呼ばれる、AMP/ATP 比が大きくなったときに活性化するプロテインキナーゼによって触媒され、このリン酸化によって HMGR の酵素活性が下がる。この調節の生理的な意義を 1～2 行で述べよ。
- (5) 波下線部の副作用（文の 2 行目）が現れる理由として、コレステロール生合成経路のメバロン酸以下の中間産物がコレステロール合成以外にも用いられていることが考えられる。たとえば、ある中間産物は、GTP 結合タンパク質等の翻訳後修飾の基質になることが知られている。三量体型 G タンパク質の場合、どの中間産物がどのサブユニットの翻訳後修飾に用いられ、その修飾がスタチンによって抑制された場合、どのような現象が細胞内で起こると予想されるか。3 行程度で説明せよ。
- (6) 下線部(b)には、HMGR の安定性と酵素の性質に関する下記の 2 つの実験 (i) および (ii) が含まれる。この結果から、HMGR の活性調節における Insig タンパク質の作用機構について考えられることを、3 行程度で述べよ。
- (i) 野生型株および *ins1* 破壊株（以下、*ins1*Δ）にシクロヘキシミド（タンパク質合成阻害剤）を加え、HMGR (●) と標準的な寿命を持つタンパク質 (○) のその後の存在量をウエスタンブロット法で調べたところ、図 1 のような結果が得られた。
- (ii) 野生型株および *ins1*Δ から HMGR をそれぞれ部分精製して K_m の値を求めたところ、X に対する K_m は、野生型株で約 0.34 mM、*ins1*Δ では約 0.17 mM であった。一方、HMG-CoA に対する K_m は、野生型株で約 34 μM、*ins1*Δ では約 37 μM であった。

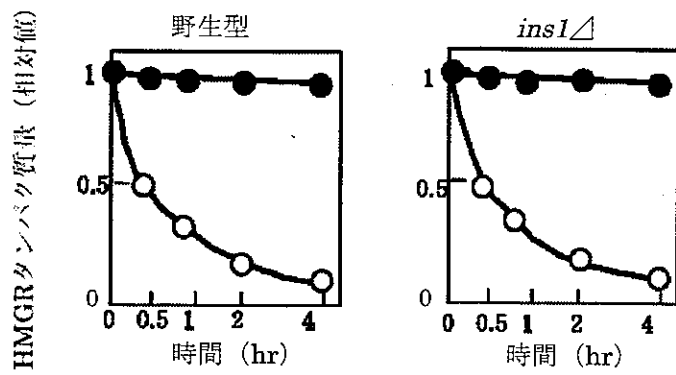


図1. シクロヘキシミドを添加してからの時間を横軸に取り、添加直後の HMGR タンパク質量を1とした相対値をグラフに示した。

[第3問]

次の文を読み、問題（１）～（７）に答えよ。

食物から吸収する３大栄養素のうち、主として（イ）と脂質はエネルギー源となり、（ロ）は体を構成する成分として機能する^(a)。肥満や代謝症候群は、エネルギー消費とエネルギー摂取の不均衡により引き起こされる。したがって肥満・代謝症候群の予防や改善には生体内のエネルギー代謝機構の理解が必要である。これまで遺伝子改変により様々な肥満あるいは痩せモデルマウスが作られ解析されている。以下に記すモデルマウスは、食餌量、酸素消費量は、ともに同腹の野生型マウスと同程度であったが、高脂肪食下で肥満抵抗性を示した。このモデルマウスでは、ある遺伝子を導入して肝臓特異的に発現させたものである。その遺伝子産物は、アセチル CoA の酸化分解に関わり、その作用により脂質からの糖新生が可能となる。ミトコンドリア・マトリックスでアセチル CoA が酸化されて生じるエネルギーから（ハ）や（ニ）が作られる。（ハ）や（ニ）が有する（ホ）をミトコンドリア内膜上で伝達させることでプロトンがミトコンドリア膜間に蓄えられる反応系を（ヘ）という。^(b)

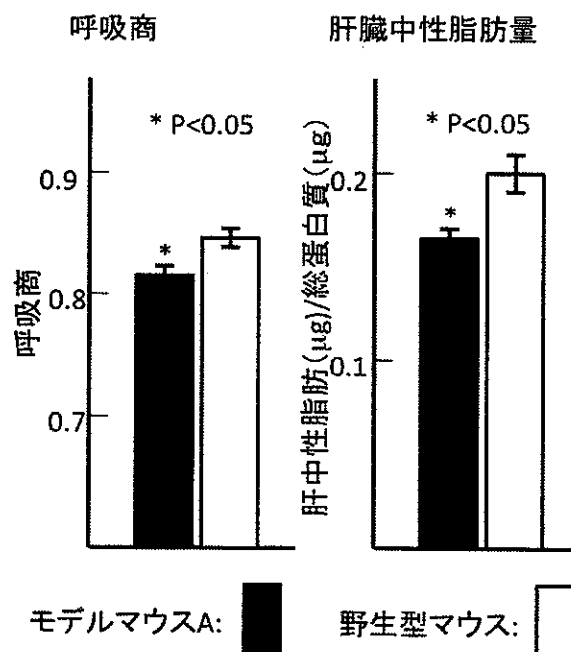
（問題）

- （１）下線部(a)について、（イ）および（ロ）に該当する栄養素を記せ。
- （２）食物から得る脂質がどのようにして代謝されるかを、小腸からの組織・臓器の間での移動の仕組みに触れながら、10行程度で述べよ。
- （３）酸素消費量に対する二酸化炭素排出量の体積比を呼吸商という。グルコースとトリパルミチルグリセロールが完全に酸化されるときそれぞれの化学反応式と呼吸商を記せ。なおパルミチル酸は炭素数16の飽和脂肪酸である。
- （４）モデルマウスの呼吸商および肝臓の中性脂肪量を測定した結果を図1に示してある。この結果に基づいて、モデルマウスの脂質代謝に関し、3行

程度で考察せよ。

- (5) 解糖によりピルビン酸が作られる。また、リパーゼの作用で中性脂肪から脂肪酸が作られる。ピルビン酸、ならびに、アシル CoA として活性化された脂肪酸は、ミトコンドリアに取り込まれ、アセチル CoA に変換される。このアセチル CoA への2種類の変換反応について、関わる酵素や反応系を、それぞれ4行程度で説明せよ。
- (6) 下線部(b)について、(ハ)、(ニ)、(ホ)、(へ) に該当するもの記せ。
- (7) ここで仮に (ハ) と (ニ) が有する1対の (ホ) から、それぞれ10個と6個のプロトンが生じ、1分子の ATP が作られるために4個のプロトンを利用するとしよう。一分子のグルコースから生じるアセチル CoA がミトコンドリア・マトリックス内で酸化されることで、何分子の ATP 産生が可能か、計算して結果を記せ。

図1



[第4問]

次の文を読み、問題（1）～（5）に答えよ。

細胞膜によって隔てられた細胞間の情報伝達は細胞外のシグナル分子によって仲介されるが、その様なシグナル分子を細胞表面上において認識する受容体分子として、主にGタンパク質共役受容体、酵素内蔵型受容体、(ア)型受容体が知られている。ただし、ステロイドホルモンなどの脂溶性のシグナル分子は(a)、それ自体が細胞膜を透過し、その細胞内受容体に作用する(b)。酵素内蔵型受容体のひとつである受容体型チロシンキナーゼは、細胞内領域にチロシンキナーゼ活性をもつ膜貫通タンパク質であり、ほとんどの場合、細胞外シグナル分子による刺激を細胞内のタンパク質チロシンリン酸化シグナルに変換する。この際、チロシンリン酸化の主な役割はタンパク質間（もしくは、タンパク質内）の特異的な結合を誘導することにある(c)。細胞外シグナル分子による刺激を認識した受容体型チロシンキナーゼは、一般に、その細胞内領域のチロシン残基をリン酸化し、特定のリン酸化部位に特定のシグナル分子を結合させる。例えば、血小板由来増殖因子 (PDGF) によって刺激を受けたヒト PDGF 受容体 (β鎖) は細胞内領域の自己リン酸化部位の一部にフォスファチジルイノシトール3キナーゼ (PI3K) の制御サブユニットを結合させることで PI3K を活性化し、細胞の増殖を正に制御する(d)。

(問題)

(1) (ア) に入る適切な語句を記せ。

(2) 下線部(a)について、脂溶性の内分泌分子であるステロイドホルモンが血漿中に存在する際の問題点を述べ、生体に見られるその解決法について3行程度で記せ。

(3) 下線部(b)について、ステロイドホルモンが結合した細胞内受容体の核内における一般的な作用を3行程度で記せ。

(4) 下線部(c)について、チロシンリン酸化がタンパク質間(内)の特異的な結合を誘導する一般的な機序について4行程度で記せ。

(5) 下線部(d)に述べられている PI3K は制御サブユニットの p85 と酵素サブユニットの p110 の複合体であり、PDGF 受容体の自己リン酸化部位と p85 の結合による構造変化によって p110 が活性化される。この酵素としての活性化に加えて、PDGF 受容体との結合によって細胞における PI3K の機能が亢進する理由について3行程度で記せ。

[第5問]

細胞周期に関する以下の文1～文3を読み、問題(1)～(6)に答えよ。

[文1] 培養細胞は2日で4倍に増える。増殖中の培養細胞を固定して、DNAを染色したところ、凝集した染色体をもつ細胞が10%見られた(a)。

[文2] 細胞周期のM期中期にある細胞の細胞質の一部を間期の細胞に注入すると、間期の細胞は直ちに染色体の凝集を開始し、核分裂をする。このようにM期の細胞の細胞質には、細胞周期のどの時期の細胞もM期に導いてしまう活性が存在する。この活性を指標に細胞抽出液から精製したタンパク質複合体MPF(b)に、Cdc25タンパク質あるいはWee1タンパク質(c)を加えると、MPFの活性が変動した。

[文3] 細胞周期のG2期にある細胞に、DNAに傷害をきたす弱いガンマ線をあてると次のM期に入るタイミングが遅れるが、しばらくすると分裂を再開する(d)。ある種の変異細胞(e)で同様の実験をすると、細胞が死んでしまった。

(問題)

(1) 下線部(a)について、この細胞の細胞周期の中でM期に要する時間はいくらか。

(2) 下線部(b)について、MPFは何の略語か。また、MPFの分子の実体は何か。

(3) 下線部(c)について、それぞれのタンパク質が持つ酵素活性を記せ。

(4) 細胞をCdc25タンパク質の阻害剤で処理すると、どのようなことが起きると考えられるか。細胞のサイズに言及して、2行程度で説明せよ。

(5) 下線部(d)について、ここで見られる細胞周期の制御機構を一般に何とよぶか。また、その概念について3行程度で説明せよ。

(6) 下線部(e)について、どのような機構に欠損をもつ細胞と考えられるか、具体的な例を2つ述べよ。それぞれの場合において、細胞はどのような形状(サイズおよび細胞周期の時期)で死に至るか、1行程度で述べよ。

[第6問]

次の文を読み、問題（１）～（４）に答えよ。

動物は種々の病原体から身を守るために、免疫系を備えている。免疫系は、自然免疫系と獲得免疫系に大きく分かれる。

（問題）

- （１）自然免疫系を司る分子として **Toll-like receptor**（トル様受容体）が知られている。このファミリー分子の特徴、および感染防御における役割について、５行程度で説明せよ。
- （２）獲得免疫系を構成する **T 細胞**、**B 細胞**、**樹状細胞**について、役割、機能についてそれぞれ３行程度で説明せよ。
- （３）ヒトが病原性大腸菌に感染したとき、感染防御反応としてどのようなことが起こると考えられるか。５行程度で説明せよ。
- （４）ヒトが **RNA ウイルス**に感染した場合は感染防御反応としてどのようなことが起きると考えられるか。５行程度で説明せよ。

