

## [ 生化学・分子生物学 I ( 基礎 ) ] ( 全 2 題 )

### [ 問題 1 ]

プロテアーゼに関する以下の文を読み、問に答えよ。

トリプシン、キモトリプシンやスブチリシンなどは【 a 】プロテアーゼと呼ばれ、タンパク質中のペプチド結合の【 1 】『(イ)脱水反応,(ロ)メチル化反応,(ハ)リン酸化反応,(ニ)加水分解反応』を触媒する。これらの酵素の触媒活性部位には【 a 】の他に【 b 】や【 c 】といったアミノ酸残基が必須であり、これらは触媒 3 残基 ( catalytic triad ) と呼ばれる。活性中心の【 2 】『(イ)三次構造,(ロ)化学構造,(ハ)絶対構造,(ニ)一次構造』はこれらの酵素で良く保存されていることが X 線結晶構造解析の結果明らかとなった。また、活性中心以外にもいくつかの構造上の特徴がある。それらのひとつは、それぞれのプロテアーゼの基質【 3 】『(イ)親水性,(ロ)疎水性,(ハ)協同性,(ニ)特異性』を決定する部位である。例えばトリプシンはポリペプチドの塩基性側鎖を持つアミノ酸残基【 d 】や【 e 】の【 4 】『(イ)カルボキシル,(ロ)アミノ,(ハ)3',(ニ)5'』末端側のペプチド結合を、またキモトリプシンは芳香族側鎖を持つアミノ酸残基【 f 】や【 g 】,【 h 】の【 4 】末端側を切断する。従って、これらのアミノ酸残基側鎖の特徴に合った構造や電荷を持つ部分が catalytic triad の近くにある。

上記のプロテアーゼ ( トリプシン、キモトリプシン、スブチリシン ) は、全て同じ触媒 3 残基を活性部位に持ち、それらの立体的な配置や触媒反応機構は同じと考えられている。しかし、【 5 】『(イ)三次構造,(ロ)化学構造,(ハ)絶対構造,(ニ)一次構造』の相同性は低く、活性に関与する部分の【 6 】『(イ)おれたたみトポロジー,(ロ)立体配置,(ハ)四次構造(ニ)反応機構』は全く異っている。これは上記の酵素がアミノ酸配列の全く異なる原始酵素から出発して進化した結果、よく似た活性中心の構造を取得し、同様の機能を有するに到ったと考えられる。このような進化を【 7 】『(イ)収れん進化,(ロ)重複進化,(ハ)分散進化,(ニ)変異進化』という。

問 A 文中の【 a 】 - 【 h 】に適切なアミノ酸 ( 残基 ) の名前を入れよ。

問 B 文中の【 1 】 - 【 7 】について『 』の中の最も適切な語句を選び記号で答えよ。

問 C タンパク質分子の立体構造の形成・維持に重要な原子間相互作用のうち、共有結合によらないものを 2 つ挙げよ。

問 D 問題文のプロテアーゼはその活性を示す時、特にエネルギーを必要としない。しかし、プロテアーゼの中には、機能するために ATP を必要とするものがある。そのような例を一つ挙げよ。そして、ATP はどのような過程に必要とされるか、あなたの考えを述べよ。

[問題 2]

下の配列は、大腸菌のある遺伝子のプロモーター（下線分）領域から構造遺伝子領域の途中までの DNA 塩基配列をデータベースから取り寄せたものである。以下の問に答えよ。なお、遺伝暗号（コドン）表を添付する。

5' ggctttacactttatgcttccggctcgtatggttggtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaa-  
cagctatgaccaagattacggattcactggcc3'

コドン表

第 1 文字	第 2 文字				第 3 文字
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U C A G
	Leu		STOP	Trp	
C	Leu	Pro	His	Arg	U C A G
			Gln		
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U C A G
	Met		Lys	Arg	
G	Val	Ala	Asp	Gly	U C A G
			Glu		

問 A この配列情報を利用して、ボックスで囲まれた範囲に相当する 2 重鎖 DNA を、大腸菌染色体 DNA を鋳型として用いたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって増幅したい。この PCR 反応に必要なプライマーを合成請負会社に注文したい。オリゴデオキシヌクレオチドの鎖長は 22 塩基とすることにした。また、上記のボックスにかこまれた範囲以外の領域は極力含まれないように増幅したい。注文書に書くべき塩基配列を示せ。

( 生化学・分子生物学 I: 3 枚中の 3 枚目 )

問 B 生体内で，上記で増幅した DNA の下線部に相当する染色体 DNA の領域に特異的に結合する酵素は何か．またその酵素が触媒する生化学反応とその生物学的意義について，400 字以内程度で説明せよ．

問 C この遺伝子が指令するタンパク質のアミノ酸配列を予測して，N 末端から 5 残基を記せ．