

(生化学・分子生物学 II : 4 枚中の 1 枚目。図も含む。)

[生化学・分子生物学 II (専門)] (全 2 題)

[問題 1]

以下の 4 つの設問の中から 2 つを選び、各々 200 字程度で記しなさい。

A) タンパク質の立体 (三次) 構造を決める情報はその一次構造中に含まれている。このことはどのような実験から示されたか ?

B) 2 種類のタンパク質が相互作用するか否かを調べる方法を 1 つ挙げ、具体的に説明しなさい。

C) タンパク質の切断・分解が、そのタンパク質の機能発現に重要な役割を持つことがある。例を 1 つあげて説明しなさい。

D) タンパク質の翻訳後の化学修飾が、そのタンパク質の機能発現に重要な役割を持つことがある。例を 1 つあげて説明しなさい。

[問題 2]

次の文章を読んで問いに答えなさい。

分裂酵母のミトコンドリア・マトリクス⁽¹⁾ に局在する酵素 A は、核の染色体遺伝子にコードされている。酵素 A の cDNA をクローニングした⁽²⁾。この cDNA を鋳型として mRNA を合成した。これを、放射性同位元素 ^{35}S で標識した含硫アミノ酸⁽³⁾ を添加した細胞抽出液に加え、タンパク質を試験管内 (in vitro) で合成した。反応産物を、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、ゲルを乾燥後、X 線フィルムに感光させたところ、酵素 A よりも移動度の小さいタンパク質 A' だけが検出された (図 1、レーン 1)。上記 in vitro 合成反応液と単離したミトコンドリアを混合し、室温で 30 分放置した後に、遠心分離 (10,000 x g) を行い、上清と沈殿とに分けた。沈殿は緩衝液に懸濁した。それぞれの溶液を、図 1 中で示したような条件でプロテアーゼ処理を行った (図 1、レーン 2-7)。これとは別に、低濃度のプロテアーゼで前処理したミトコンドリアを用いて同様の実験を行った (図 1、レーン 8、9)。それぞれのサンプルを SDS ポリアクリルアミド電気泳動にかけ、上記と同様にして検出して、図 1 のような結果を得た。

問 A. 下線部 1 に関連して次の問いに答えなさい。

- (a) 真核細胞の絵を模式的に描きなさい。核、小胞体 (ER)、ミトコンドリア、リソソーム (液胞)、ゴルジ体を、相互関係に留意しつつ各々の名前とともに図示しなさい。ミトコンドリア・マトリクスも示しなさい。脂質二重層 (lipid bilayer) は 1 本の線で示すこと。
- (b) 上記模式図中に、DNA が局在する位置を示しなさい。

(生化学・分子生物学 II : 4 枚中の 3 枚目。図も含む。)

問 B. 下線部 2 について、次の問いに答えなさい。

(a) cDNA のクローニングの手順を簡単に述べなさい。

(b) この実験で、染色体にコードされる酵素 A の遺伝子そのものではなく、cDNA を使用した理由を述べなさい。

問 C. 下線部 3 に関連して、次の問いに答えなさい。

タンパク質を構成する含硫アミノ酸を 2 種類あげ、それぞれの名前と構造式を示しなさい。(光学活性に留意し、立体構造が明らかになるよう、分子模型あるいは Fischer の投影式等を用いて示すこと。)

問 D.

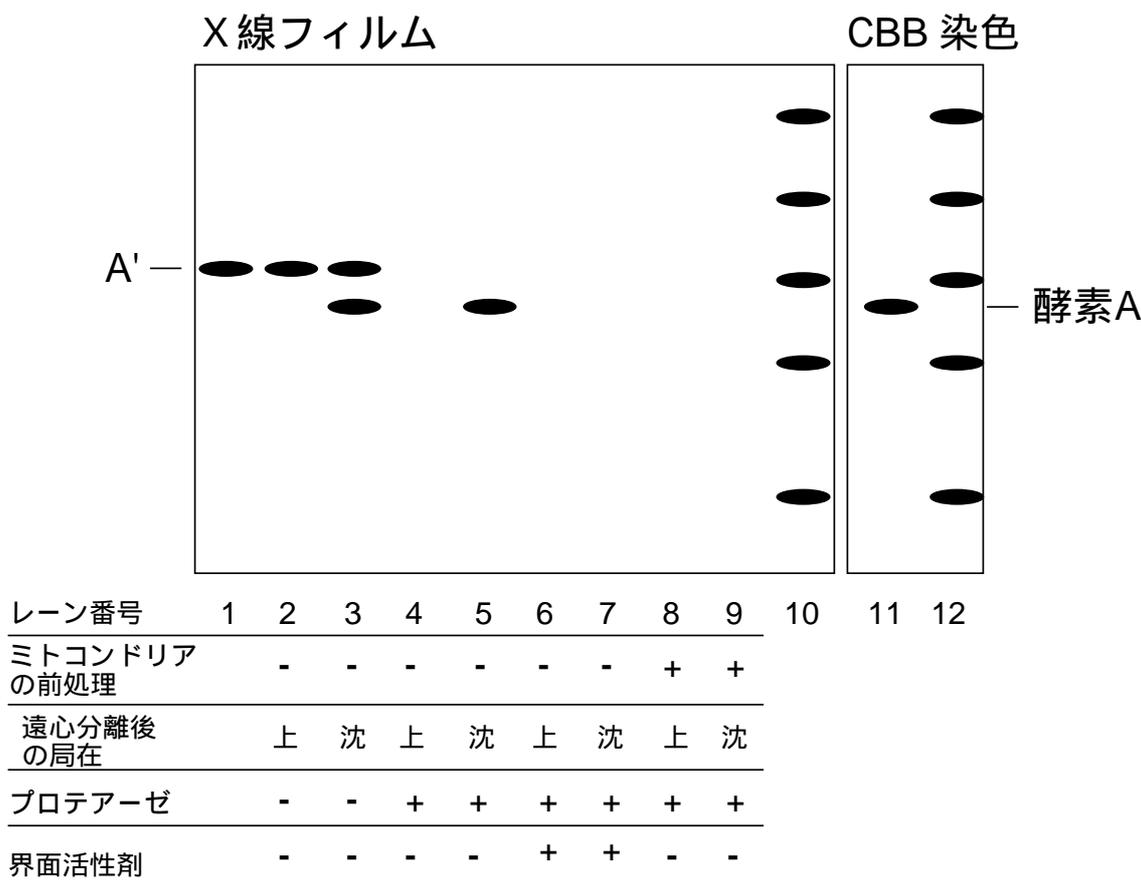
(a) 図 1 レーン 2 - 7 の結果から、タンパク質 A' はミトコンドリア内に取り込まれ、酵素 A へと変換したと予想されます。そのように考えられる理由を、レーン番号等をあげて解りやすく説明しなさい。

(b) タンパク質 A' はどのような分子であると予想されますか？ミトコンドリアへの移行と関連づけて説明しなさい。

問 E. 図 1 のレーン 4 , 5 とレーン 8 , 9 の結果を比較して、酵素 A のミトコンドリアへの局在の為に、ミトコンドリアのどのような生体分子が関与していると考えられますか？簡潔に述べなさい。

問 F. 問 E で答えた生体分子を同定するための実験計画を、具体的な例をあげて簡単に書きなさい。

図 1



低濃度のプロテアーゼで前処理したミトコンドリア (レーン 8、9)、前処理しなかったミトコンドリア (レーン 2 から 7) を実験に使用した。 ^{35}S 標識アミノ酸存在下で試験管内合成したタンパク質 A' (レーン 1) と各ミトコンドリアを混合した。室温で 30 分間放置後、 $10,000 \times g$ で 10 分間遠心分離を行って上清と沈殿に分けた。沈殿は緩衝液に懸濁した。上清画分 (レーン 2、4、6、8)、沈殿画分の懸濁液 (レーン 3、5、7、9) をプロテアーゼ (レーン 4 - 9) もしくは、緩衝液 (レーン 2、3) と混合し、氷上で 20 分反応させた。レーン 6、7 のサンプルは、プロテアーゼ消化実験時に、非イオン性界面活性剤を加えた。反応終了後、各サンプルを、電気泳動により解析した。レーン 10 は、放射標識分子量マーカー。

ミトコンドリア・マトリクスから精製した酵素 A を、SDS ポリアクリルアミド電気泳動した後、CBB (クマシーブリリアントブルー) により染色した (レーン 11)。レーン 12 は、CBB 染色された分子量マーカー。