

## [生化学・分子生物学 II (専門)] (全 2 題)

[問題 1] 以下の文章を読み、問 A～E に答えよ。

DNA は A, G, C, T の 4 種類の塩基で構成される遺伝情報 (genetic information) をもつ。細胞の中で、これらの塩基はさまざまな要因によって損傷 (damage) を受けるが、生体内の修復機構 (repair mechanism) によって情報は正確にたもたれる。細胞は遺伝情報を必要なときにのみ発現する機構をもつ。

DNA の複製 (replication) は細胞周期 (cellular cycle) 中の S 期におこる。DNA は二本鎖の一方の鎖を鋳型鎖 (template strand) として、相補的 (complementary) な塩基対認識 (base pair recognition) によって半保存的 (semiconservative) に複製される。二重らせん構造を形成している二本鎖 DNA の状態のままでは、複製は始まらない。まず、二本鎖 DNA を一本鎖 DNA にほどかなければならない。この際に主に働くのは [a] であり ATP のエネルギーを使って二本鎖 DNA を一本鎖にほどく。一方、[b] はほどかれた鋳型鎖から新しい相補鎖 DNA の合成を開始する。重要な点は [b] による反応は 5' から 3' 方向にしか進めないことである。DNA 複製において [b] により 2 種類の相補鎖が合成されるが、この制約のために一つは [c] と呼ばれる長く連続的に合成される鎖となり、もう一つの鎖は不連続な [d] と呼ばれる短い DNA 断片となる。この断片は [e] 鎖とも呼ばれ、RNA の短いプライマーから合成され [f] の働きによってつなげられ完全な二本鎖 DNA が形成される。

DNA を鋳型として相補的な RNA を合成する過程を転写と呼ぶ。この過程で主に働いているのは [g] である。RNA 合成では DNA 複製と対照的に [a] を必要としない。[g] は二本鎖 DNA を自ら解きほぐしながら、RNA を合成する。真核細胞において、転写が開始される起点から 5' 側に数十塩基対離れた位置に [h] 領域と呼ばれる配列が存在する。一般に転写因子 (transcription factor) と呼ばれるタンパク群が [h] 領域に結合することによって [g] が結合し転写が開始される。合成された RNA はプロセッシングを受けた後、核膜孔を通り細胞質に運搬される。

問 A [a] ～ [h] に適切な語句を入れよ。

問 B DNA は酸化ストレスにさらされており、グアニンから 8 オキソグアニンが生成することが知られている。これは GC-TA トランスバージョン突然変異の原因になる。この分子機構について塩基対を示しながら説明せよ。

問 C RNA では T の代わりに U が塩基として用いられている。RNA ワールド仮説に基づいて、考えられる理由を 100 字程度で答えよ。

- 問 D ヒトの体細胞等においては細胞分裂のたびにテロメア部分では DNA の短縮が起こる。この機構を 100 字程度で答えよ。
- 問 E 二本鎖 DNA の構造として知られている 3 つの典型的な構造について、巻き方、らせん構造の一回転に必要な残基数を含めて 200 字程度で答えよ。

[問題 2] 以下の文章を読み, 問 A~F に答えよ.

神経ペプチド (neuropeptide) は神経細胞 (neuron) 間の情報伝達に働く短いタンパク質である. 中枢神経系 (central nervous system) において最も豊富に存在する神経ペプチドに, 神経ペプチド Y (neuropeptide Y; NPY) がある. 下図は NPY 遺伝子のうち転写 (transcription) される約 8,000 塩基の配列の一部である. ①成熟体 (mature form) mRNA となる領域を大文字で, それ以外の領域を小文字で (一部は....と略記), 翻訳 (translation) される領域の下に各アミノ酸を三文字表記で示した. \*\*\*は終止コドンを示す.

NPY は 97 アミノ酸の前駆体 (precursor form) (プレプロ NPY (preproNPY)) として合成された後, ②アミノ末端から 28 残基からなる領域を切除されプロ NPY (proNPY) となる. プロ NPY はプロホルモン転換酵素, カルボキシペプチダーゼなどの作用で 36 アミノ酸残基からなる成熟体の NPY となり, 細胞外へ分泌 (export) される.

```

ACCCCATCCGCTGGCTCTCACCCCTCGGAGACGCTCGCCCGAGAGCATAGTACTTGCCGC
CCAGCCACGCCCGCGCGCCAGCC[?]CCgtgagtgctacgaccgctctgtctaggggt....
...cccgtccgttgagccttctgtgcctgcagATGCTAGGTAACAAGCGACTGGGGCTGT
MetLeuGlyAsnLysArgLeuGlyLeuS
CCGGACTGACCCTCGCCCTGTCCCTGCTCGTGTGCCTGGGTGCGCTGGCCGAGGCGTACC
erGlyLeuThrLeuAlaLeuSerLeuLeuValCysLeuGlyAlaLeuAlaGluAlaTyrP
CCTCCAAGCCGGACAACCCGGGCGAGGACGCACCAGCGGAGGACATGGCCAGATACTACT
roSerLysProAspAsnProGlyGluAspAlaProAlaGluAspMetAlaArgTyrTyrS
CAGCGCTGCGACACTACATCAACCTCATCACCAGGCAGAGgtgggtgggaccgcgggacc
erAlaLeuArgHisTyrIleAsnLeuIleThrArgGlnAr
gattccggga.....acttgctttaaagactttttttttccagATATGGAAAACGA
gTyrGlyLysArg
TCTAGCCCAGAGACACTGATTTTCAGACCTCTTGATGAGAGAAAGCACAGAAAATGTTCCC
SerSerProGluThrLeuIleSerAspLeuLeuMetArgGluSerThrGluAsnValPro
AGAACTCGgtatgacaaggcttgtgatggggacattggtg.....ccttacatgcttt
ArgThrAr
gcttcttatgttttacagGCTTGAAGACCCTGCAATGTGGTGATGGGAAATGAGACTTGA
gLeuGluAspProAlaMetTrp***
GACTTGCTCTCTGGCCTTTTCCTATTTTCAGCCCATATTTTCATCGTGTAAAACGAGAATC
CACCCATCCTACCAATGCATGCAGCCACTGTGCTGAATTCTGCAATGTTTTCTTTGTCA
TCATTGTATATATGTGTGTTTAAATAAAGTATCATGCATTC

```

図 NPY 遺伝子の転写領域配列

問 A 下線部①「成熟体 (mature form) mRNA となる領域」を生成する過程を説明した以下の文の  ～  に適切な語句を入れよ。

一般に真核生物の遺伝子では、タンパク質をコードする  と呼ばれる領域がタンパク質をコードしない  と呼ばれる領域によって分断されている。転写された mRNA 前駆体は  と呼ばれる反応によって  を除去される。

は核内低分子リボヌクレオタンパク質 (small nuclear ribonucleoprotein) (snRNP; U1, U2, U4, U5, U6 からなる) の集合体である  によって触媒される。まず U1 snRNP が  の 5'末端に結合すると、次いで U2 snRNP が枝分かれ (branch) 部位に結合する。さらに U4, U5, U6 snRNP が会合し、U1 snRNP が放出されると  の 5'末端が切断され、ブランチ部位と結合する。このとき  は  構造となる。最後に  の 3'-OH が次の  の 5'末端と結合すると、 は放出される。

問 B 図中、斜体 (イタリック) 表示した「成熟体 mRNA となる領域」は翻訳されない。この領域の四角で囲った A を C に置換したところ、細胞質の成熟体 mRNA 量には変化がなかったが、プレプロ NPY の合成量が低下した。このイタリックで表示した領域の機能として考えられるものを二つ挙げよ。

問 C 逆転写酵素 (reverse transcriptase) を用いて NPY の成熟体 mRNA 全領域に対する  を合成した。 を鋳型に用い、プライマー1 およびプライマー2 を用いて PCR (polymerase chain reaction) を行った。

プライマー1: 5'-TCTAGCCCAGAGACACTGATT-3'

プライマー2: 5'-AGGGTCTTCAAGCCGAGTTCT-3'

- (1) 上記文中  に適切な語句を入れよ。
- (2) 逆転写酵素の生体内での働きを一つ挙げよ。
- (3) PCR で増幅される領域に下線を引け。

問 D 下線部②について、以下の問に答えよ。

- (1) 「アミノ末端から 28 残基からなる領域」は何と呼ばれるか。
- (2) また、一般にこの領域にはどのような性質を持つアミノ酸が含まれるか。一次構造上の配置にも留意し、50 字程度で説明せよ。
- (3) この領域が NPY の生合成において担う役割を、次の 3 つの語句を用いて 150 字程度で説明せよ。語句: signal recognition particle (SRP), 翻訳, Sec61 複合体

問 E プロ NPY は小胞輸送 (vesicular transport) により細胞外へ分泌される。プロ NPY の合成がリボソーム (ribosome) で開始された後、細胞外へ分泌されるまでの経路を、経由する細胞内小器官 (organelle) と輸送小胞 (transport vesicle) の名前を挙げて説明せよ。

問 F NPY 受容体は G タンパク質共役受容体 (G-protein-coupled receptor: GPCR) に属する。GPCR に関する以下の文の  ～  に適切な語句を入れよ。

GPCRはN末端が細胞外に、C末端が細胞内にあり、7箇所のからなる膜貫通領域を持つ。GPCRと共役しているグアニンヌクレオチド結合タンパク質 (Gタンパク質) は $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ の3つのサブユニットから構成されている。このうち $\alpha$ サブユニットはGTPase 活性を持つ。 $\alpha$ サブユニットにが結合した状態では、Gタンパク質は不活性型に保たれる。GPCRの構造変化に伴いの解離が起こると、が結合して $\alpha$ サブユニットの構造が変化して活性型になり、 $\alpha$ サブユニットが複合体から解離する。このようにGPCRは $\alpha$ サブユニットのとして働く。単離した $\alpha$ サブユニットのGTPase 活性は弱い。これに対し、細胞内ではが $\alpha$ サブユニットに結合し、 $\alpha$ サブユニットのGTPase活性を促進することによってすばやく不活性型に戻している。