

アミノ酸（3文字略号も）の構造と種類について詳述せよ。

pKa とは何を意味するか述べよ。  
 $V.p.18 \quad pK = -\log K_a$   
 $K_a = K[H_2O] \text{ aqua?}$   
$$\begin{array}{c} 3.86 \\ \text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} \quad 2.09 \\ \phantom{\text{HOOC}-\text{CH}_2-} \quad \quad \quad 9.82 \end{array}$$

タンパク質中の酸性アミノ酸・Asp において、(不斉炭素に結合している)カルボキシル基(すなわち、 $\alpha$ 位のカルボキシル基)の pKa は 2.09、(不斉炭素に結合している)アミノ基の pKa は 9.82、 $\beta$ 位のカルボキシル基の pKa は 3.86 であることが一般的に知られているが、pH 1, 3, 6, 11 (と異なった pH) の水溶液中においては Asp 具体的にはどのような構造をとるか記せ。

アミノ酸やタンパク質の等電点 (pI; Isoelectric point) とは何か説明せよ。  
アミノ酸の正味の電荷が 0 になる pH

Disulfide bond (ジスルフィド結合) について説明せよ。V.p. 15

タンパク質の  $\alpha$ -Helix、 $\beta$ -Sheet について説明せよ。

タンパク質の Denaturation (変性) について説明せよ。

タンパク質を変性させる方法を一つ挙げ、なぜその方法で変性が起こるのか簡潔に説明せよ。

尿素や塩酸グアニジンとは何か説明せよ。

透析とは何か説明せよ。

タンパク質などの精製に関わるイオン交換クロマトグラフィーについて述べよ (例えば、DEAE タイプはどんな樹脂?)

ゲルろ過クロマトグラフィーとは何か?

タンパク質を分離する方法を 2 つあげ、その原理を説明せよ。

タンパク質の一次構造、二次構造、三次構造、四次構造それぞれについて構成要素も含め説明せよ。

タンパク質の高次構造 (2 次、3 次、4 次構造) について説明せよ。

タンパク質の一次構造を決定する手順について説明せよ (但し、インスリンのような S-S 架橋をもつやや複雑なタンパク質ではなくて、S-S 架橋を持たない 1 本鎖の単純なポリペプチドの一次構造に対して解答せよ)。

例えば 100 残基をこえるアミノ酸からなるタンパク質の一次構造を決定するには、通常まず、長鎖タンパク質をいくつかのフラグメントに限定分解し、生じた各フラグメントについてエドマン法によりアミノ酸配列を決定する。この際に用いられるペプチド結合の選択的分断法について説明しなさい。

ある構造未知のタンパク質を単一に精製することに成功した。このタンパク質は分子量が約 1 万 1 0 0 0 で、2 0 種類全てのアミノ酸から構成されていた。プロテインシーケンサーを使って N 末端配列を分析したが、2 0 サイクルまでしか正確に読み取ることができなかった。このタンパク質の全 1 次構造をプロテインシーケンサーを使って決定したい。どのような実験と解析を行えばよいか簡潔に説明せよ (ヒント: アミノ酸の平均分子量は 1 1 0)。

タンパク質のアミノ酸配列に 3 次構造の情報が組み込まれていることは、どのようにして証明されたか?

酵素反応速度論における  $K_m$  について記せ。

酵素反応の阻害形式の中で、拮抗阻害とは何か説明せよ。

ペニシリンの作用機構について説明せよ。 また、リゾチームは何に作用するか説明せよ。

Peptidoglycan transpeptidase (Glycopeptide transpeptidase) について説明せよ。

Acyl 中間体 (Acyl 酵素) について説明せよ。

キモトリプシンを例として、活性中心に存在するアミノ酸残基とその役割を簡潔に述べよ。

タンパク質分解酵素 (プロテアーゼ) は、活性基の種類によって 4 種類に大別される。分類の内容およびそれぞれについて代表的な酵素名を記せ。

核酸の構成成分は何か述べよ。また、それらの結合の仕方について説明せよ。

DNA と RNA の化学構造の相違、並びに機能の特性について説明せよ。

DNA のどのような性質が遺伝物質としての役割を果たすのに適しているか、知るところをそれぞれ簡潔に述べよ。

Nucleoside や Nucleotide とは何か説明せよ。

プリンやピリミジンとは何か、各々、構造式別に説明せよ。

A, C, G, T の構造式を書き、どの原子間で水素結合しているか示しなさい (水素結合はそれぞれ何本か?)。

DNA の二重鎖を 1 本鎖にするにはどのようにすればよいか述べよ。また、その変化を最も簡単に見るにはどうすればよいか述べよ。

コドン、アンチコドン、コドン表について詳述せよ。

クリックが提唱したセントラルドクマについて述べよ。

RNA にはどのようなものがあるか挙げるとともに、それぞれについて知るところを述べよ。

RNA の機能について述べよ。

3 種類の RNA (mRNA, tRNA, rRNA) の各々について述べよ。

Intron と Exon について述べよ。

RNA の Splicing について述べよ。

Transcription (転写) について知るところを述べよ。

Translation (翻訳) について知るところを述べよ。

Cys-Lys-Asx-Asx-Glx-Asx-Pro-His-Ser-Ser-Asx-Ile-Cys-Asn-Ile-Ser-Cys-Asp-Lys-Pheのペプチドの一次構造の決定法について述べよ (但し、AsxはAsnあるいはAsp。GlxはGlnあるいはGlu)

1. 一本鎖かどうか

シスチド基橋の切断をす。過酸による酸化でS-S結合を分離(一本鎖にする)。

2. 加水分解

① 酸加水分解: 6N-HCl, 100~120°C, 10~100時間  
 注意: Trpが破壊されるため②を行う。また、Thr, Serも壊れることがあるが加水分解の時間を変えて割合を調べて補正する。

② アルカリ加水分解: 2~4N-NaOH, 100°C, 4~8時間  
 Trpの定量のために①を行う。

3. 組成の決定

イオン交換クロマトグラフィー/ニヒドリン比色法(発色の吸光度)で定量。その結果得られた1巻出曲線について、各ピークごとにアミノ酸量を計算して各々のアミノ酸の含有量を算出する。

結果: Asx 6, Cys 3, Ser 3, Ile 2, Lys 2, Glx 1, His 1, Pro 1, Phe 1

4. N末端の同定 (i), (ii)どちらか

(i) DNP法

DNFBで処理し、ついで加水分解をする。DNFB化により、アミノ末端のアミノ酸が黄色化する。標識された残基を遊離のアミノ酸と分離し、既知の各アミノ酸のジニトロフェニル誘導体とクロマトグラフィーで比較して同定する。結果: Lys

(ii) DNS法

Dansylchlorideと反応させるとDansyl基が強い蛍光をもつ。そのN末端アミノ酸のDansyl誘導体は蛍光測定により、そのスペクトルからR基(アミノ酸)が決定できる。結果: Lys

5. C末端の同定

CarboxypeptidaseでC末端ペプチド結合に特異的に作用して、末端残基を除去する。この処理により、第一反応生成物としてPheが得られる。

6. 断片化

① トリプシン処理

(i) このペプチドのフラグメントが生じた。各々の組成をクロマトグラフィーで決定する。

結果: (Cys, Lys), (Asx, Ser, Ile, Cys, Lys, Glx, His, Pro) (Phe)

(ii) 各フラグメントのN末端をDNP法、或いはDNS法により決定する。

結果: NH<sub>2</sub>-Cys-Lys-Asx-(Asx, Ser, Ile, Cys, Glx, His, Pro)-Lys-Phe

(A)

6. (断片化)

② (A) についてトリプシン処理

(i) このペプチドのフラグメントが生じた。各々の組成をクロマトグラフィーで決定する。

結果: (a) Asx-(Asx, Ser, Glx, His, Pro)

(b) Ile-(Cys, Asx)

(c) Ile-(Asx, Cys, Ser)-Lys

③ (B) について

Edman分解を行うとチアゾリノ誘導体が生成され、N末端が遊離する。この分解をN末端から順に行うことでアミノ酸配列を決定する。

結果: Ile-Asn-Cys

④ (C) について

エラスターゼ処理

(i) このペプチドのフラグメントが生じた。各々の組成をクロマトグラフィーで決定する。

結果: (c)-α Ile-Ser

-β Cys-Asx-Lys

(c)-βについてEdman分解を行うとAsxがAspであると決定される。よって(c)-β: Cys-Asp-Lys

結果 (c): Ile-Ser-Cys-Asp-Lys

⑤ (a) について

(i) エラスターゼ処理

このペプチドのフラグメントが生じた。各々の組成をクロマトグラフィーで決定する。

結果: (a)-α Asx-(Asx, Glx, His, Pro)-Ser

(a)-β (Ser, Asx)

(ii) (a)-αについて

選択的Pro結合の断裂を行う。プロリン残基はペプチド鎖中で第二級アミドを形成している。この特性を利用して、イミド結合とペプチド結合の断裂が可能になる。その際、還元試薬としてNa-液、NH<sub>2</sub>OHを用いる。Na-NH<sub>2</sub>を用いるとプロリン残基をアミノ末端とペプチド断片が生成される。生成されたプロリン残基はフラグメントの各々の組成をクロマトグラフィーで決定する。

結果: (a)-α-I Asx-(Asx, Glx)

-II Pro-His-Ser

(ii) (a)-α-Iについて

Edman分解を行う。N末端から順に配列を決定する。

結果: Asx-Asx-Glx-Asx

結果: (a)-α: Asx-Asx-Glx-Asx-Pro-His-Ser

(iii) (a)-βについて

DNP法、或いはDNS法により、N末端を決定する。

結果: (a)-β: Ser-Asx

結果: (a): Asx-Asx-Glx-Asx-Pro-His-Ser-Ser-Asx

以上のことから与えられたペプチド鎖のアミノ酸配列は

Cys-Lys-Asx-Asx-Glx-Asx-Pro-His-Ser-Ser-Asx-Ile-  
 -Ser-Asn-Ile-Ser-Cys-Asp-Lys-Phe

と決定できる。