

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題 1. タンパク質の精製に関して以下の問いに答えよ。(25点)

問 1. サイズ排除クロマトグラフィー (ゲルろ過クロマトグラフィー) は、分子を大きさと形で分離する方法である。以下のタンパク質 A、B、C、D の混合溶液を、サイズ排除クロマトグラフィーに供して分離した。

(1) カラムから溶出されるタンパク質の順番を早いものから順に解答せよ。(2) この順番に至った理由を解答せよ。

混合溶液には、タンパク質 A (分子量=100,000、等電点=8.0)、タンパク質 B (分子量=200,000、等電点=9.0)、タンパク質 C (分子量=75,000、等電点=8.5)、タンパク質 D (分子量=60,000、等電点=5.5) が溶解している。なお、溶液中においてタンパク質 A と B は単量体として、タンパク質 C は二量体として、タンパク質 D は四量体として存在するものとする。また、タンパク質 A、B、C、D のアミノ酸組成は一般的なタンパク質と同様であり、かつ、球状タンパク質として存在するものとする。

問 2. 陽イオン交換樹脂および陰イオン交換樹脂によるイオン交換クロマトグラフィーは、タンパク質の荷電状態の違いを利用してタンパク質を分離する技術である。イオン交換クロマトグラフィーを利用して、問 1 のタンパク質混合溶液からタンパク質 D のみを精製するには、どのような条件 (イオン交換樹脂の種類や緩衝液とその pH など) を用いて精製すればよいか解答せよ。

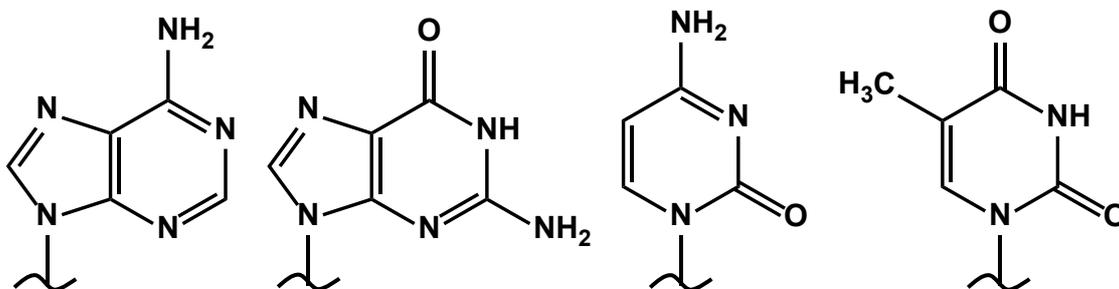
問 3. 荷電アミノ酸残基はタンパク質の電荷に影響を与える。(1) 正電荷をもつすべてのアミノ酸の名称と、(2) 負電荷をもつすべてのアミノ酸の名称を解答せよ。

問 4. 問 3 に関して、負電荷をもつ全てのアミノ酸残基の化学構造を図示せよ。

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題2. 核酸に関する以下の問いに答えよ。(25点)

問1. DNAを構成する4種類のヌクレオチドの塩基部分の化学構造を示す。それぞれの塩基の名称を左から順に解答せよ。



- 問2. 問1に関して、DNAの二重らせん構造に見られるワトソン・クリック型の塩基対合を図示せよ。その際、化学構造とともに水素結合も図に記入すること。
- 問3. 問1の右から二番目の塩基をもつヌクレオチドは、容易に脱アミノ化される。脱アミノ化され生じる塩基の名称を解答するとともに、その化学構造を図示せよ。
- 問4. 問3に関して、DNA中でこのような脱アミノ化が起こり、修復されずに放置されると、どのような塩基対合に変異するか解答せよ。
- 問5. 問4に関して、このDNA損傷を修復する機構の名称を解答せよ。また、その修復に関わる酵素名を列挙するとともに、修復機構の詳細を解答せよ。

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題3. RNAのプロセッシングについて以下の問いに答えよ。(25点)

- 問1. 真核生物の mRNA 前駆体にはエキソンがイントロンにより分断されている。エキソンおよびイントロンとは何か解答せよ。
- 問2. mRNA 前駆体が、いかにして成熟型 mRNA に変換されるのか以下の用語を全て用いて解答せよ。
用語：5'スプライス部位、3'スプライス部位、内部アデノシン、ラリアット構造
- 問3. 選択的スプライシングの利点について解答せよ。
- 問4. 真核生物 mRNA の 5'末端に付加した特徴的な核酸構造を何というか解答せよ。
- 問5. 問4 に関して、この核酸構造はタンパク質合成において重要な役割を持っている。この役割について解答せよ。

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題4. タンパク質の合成に関する以下の問いに答えよ。(25点)

- 問1. 原核生物のタンパク質合成において、開始コドンとなり得るコドンをすべて解答せよ。
- 問2. 原核生物のタンパク質合成において、翻訳開始部位(開始コドン)が特異的に選択される機構について解答せよ。
- 問3. リボソームは大小二つのサブユニットから構成されている。それぞれのサブユニットの機能について、以下の用語を全て用いて解答せよ。
用語：デコーディング、ペプチジル転移、アミノアシル tRNA、ペプチジル tRNA、A 部位、P 部位
- 問4. 61 種類のコドンを読解するために、生物は少なくとも 32 種類の tRNA を必要とする。このように、tRNA の種類は豊富である一方、それらの立体構造は全て同様の大きさと L 字型構造をとっている。全ての tRNA が類似した立体構造をとる理由について機能的な観点から解答せよ。

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題 1. タンパク質の精製に関して以下の問いに答えよ。(25点)

- 問1. サイズ排除クロマトグラフィー(ゲルろ過クロマトグラフィー)は、分子を大きさと形で分離する方法である。以下のタンパク質 A、B、C、D の混合溶液を、サイズ排除クロマトグラフィーに供して分離した。(1) カラムから溶出されるタンパク質の順番を早いものから順に解答せよ。(2) この順番に至った理由を解答せよ。
- 混合溶液には、タンパク質 A (分子量=100,000、等電点=8.0)、タンパク質 B (分子量=200,000、等電点=9.0)、タンパク質 C (分子量=75,000、等電点=8.5)、タンパク質 D (分子量=60,000、等電点=5.5) が溶解している。なお、溶液中においてタンパク質 A と B は単量体として、タンパク質 C は二量体として、タンパク質 D は四量体として存在するものとする。また、タンパク質 A、B、C、D のアミノ酸組成は一般的なタンパク質と同様であり、かつ、球状タンパク質として存在するものとする。
- 問2. 陽イオン交換樹脂および陰イオン交換樹脂によるイオン交換クロマトグラフィーは、タンパク質の荷電状態の違いを利用してタンパク質を分離する技術である。イオン交換クロマトグラフィーを利用して、問1のタンパク質混合溶液からタンパク質 D のみを精製するには、どのような条件(イオン交換樹脂の種類や緩衝液とその pH など)を用いて精製すればよいか解答せよ。
- 問3. 荷電アミノ酸残基はタンパク質の電荷に影響を与える。(1) 正電荷をもつすべてのアミノ酸の名称と、(2) 負電荷をもつすべてのアミノ酸の名称を解答せよ。
- 問4. 問3に関して、負電荷をもつ全てのアミノ酸残基の化学構造を図示せよ。

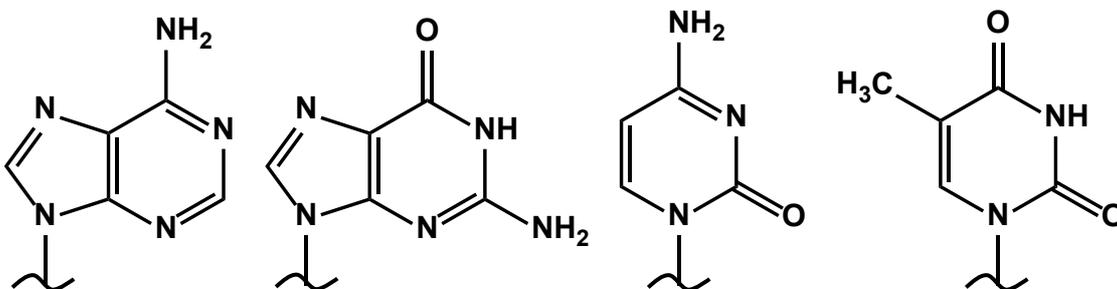
解答例

- 問1. (1) タンパク質 D -> タンパク質 B -> タンパク質 C -> タンパク質 A
 (2) 溶液中において、タンパク質 A はモノマーなので 100 k として、タンパク質 B はモノマーなので 200 k として、タンパク質 C はダイマーなので 150 k として、タンパク質 D はテトラマーなので 240 k として存在する。球状タンパク質の場合、サイズ排除クロマトグラフィーでは、分子量の大きいものから順に溶出されるため、タンパク質 D -> タンパク質 B -> タンパク質 C -> タンパク質 A の順に溶出される。
- 問2. タンパク質 A、B、C の等電点は 8.0~9.0 の範囲にあり塩基性タンパク質である。一方、タンパク質 D の等電点は 5.5 であり酸性タンパク質です。したがって、pH8 程度の緩衝液中では、タンパク質 D だけが分子全体として負電荷を帯びていると考えられる。以上から、pH8 程度の緩衝液にタンパク質混合溶液を透析し、同じ緩衝液で平衡化した陰イオン交換カラムへサンプルを供することにより、タンパク質 D だけをカラムに吸着させ、その後、塩濃度を上昇させてタンパク質 D を溶出すれば、タンパク質 D のみを精製できると考えられる。
- 問3. (1) アルギニン、リジン、ヒスチジン
 (2) グルタミン酸、アスパラギン酸
- 問4. ヴォート基礎生化学 第5版 53 ページの表 4.1 に掲載されたグルタミン酸、アスパラギン酸の化学構造を参照のこと。

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題2. 核酸に関する以下の問いに答えよ。(25点)

問1. DNAを構成する4種類のヌクレオチドの塩基部分の化学構造を示す。それぞれの塩基の名称を左から順に解答せよ。



- 問2. 問1に関して、DNAの二重らせん構造に見られるワトソン・クリック型の塩基対合を図示せよ。その際、化学構造とともに水素結合も図に記入すること。
- 問3. 問1の右から二番目の塩基をもつヌクレオチドは、容易に脱アミノ化される。脱アミノ化され生じる塩基の名称を解答するとともに、その化学構造を図示せよ。
- 問4. 問3に関して、DNA中でこのような脱アミノ化が起こり、修復されずに放置されると、どのような塩基対合に変異するか解答せよ。
- 問5. 問4に関して、このDNA損傷を修復する機構の名称を解答せよ。また、その修復に関わる酵素名を列挙するとともに、修復機構の詳細を解答せよ。

解答例

問1. アデニン、グアニン、シトシン、チミン

問2. ヴォート基礎生化学 第5版 31ページの図3.8の通り。

問3. ウラシル。化学構造は、ヴォート基礎生化学 第5版 28ページの表3.1の通り。

問4. シチジンが脱アミノ化され、ウリジンになる。DNAが複製される際、ウリジンはアデノシンと対合し、娘DNAにAが導入される。その結果、もともと、C-G塩基対であった部位がT-A塩基対に変異してしまう。

問5. DNA損傷を修復する機構の名称：塩基除去修復。

修復に関わる酵素：ウラシル-DNAグリコシラーゼ (UDG)、APエンドヌクレアーゼ、DNAポリメラーゼ、DNAリガーゼ

修復機構：DNA中のCが脱アミノ化されUになると、UDGがUを見つけ出し、ウリジンのグリコシド結合を加水分解して遊離ウラシルとAP部位(無塩基部位)を産生する。次に、APエンドヌクレアーゼがAP部位を認識して、その近傍にニックを入れる。DNAポリメラーゼのエクソヌクレアーゼ活性により、AP部位を含む領域が除去され、同時に、DNAポリメラーゼがそのギャップを埋めて正しいDNA配列を合成し、最後にDNAリガーゼがニックを繋いで修復が完了する。

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題3. RNAのプロセッシングについて以下の問いに答えよ。(25点)

- 問1. 真核生物の mRNA 前駆体にはエクソンがイントロンにより分断されている。エクソンおよびイントロンとは何か解答せよ。
- 問2. mRNA 前駆体が、いかにして成熟型 mRNA に変換されるのか以下の用語を全て用いて解答せよ。
用語：5'スプライス部位、3'スプライス部位、内部アデノシン、ラリアット構造
- 問3. 選択的スプライシングの利点について解答せよ。
- 問4. 真核生物 mRNA の 5'末端に付加した特徴的な核酸構造を何というか解答せよ。
- 問5. 問4に関して、この核酸構造はタンパク質合成において重要な役割を持っている。この役割について解答せよ。

解答例

- 問1. エクソンとは、mRNA 前駆体がスプライシングされ、成熟型 mRNA として残る領域のことであり、タンパク質のアミノ酸を指定する領域や mRNA の 5'や 3'非翻訳領域なども含む。イントロンは、スプライシングにより除去される領域のこと。
- 問2. イントロンには保存された内部アデノシンが存在し、このアデノシンの 2'-OH 基が 5'スプライス部位を求核攻撃する。この結果、イントロン上流の 5'側エクソンが遊離するとともに、イントロンは特徴的なラリアット構造を形成する。次に、5'側エクソンの遊離 3'-OH 基が 3'スプライス部位を求核攻撃して、3'側エクソンの 5'末端リン酸基とリン酸エステル結合を形成し、エクソンどうしが連結してスプライシングが完了する。
- 問3. 一つの遺伝子から複数の mRNA を産生することが可能となり、その結果、多様なタンパク質を組織特異的かつ発生段階特異的に作り出すことができること。
- 問4. m7G キャップ。
- 問5. 真核生物において、m7G キャップはタンパク質合成の開始段階において重要な役割を果たす。つまり、eIF4F が m7G キャップを認識して mRNA の 5'側に結合する。その後、他の開始因子との相互作用で開始前複合体(開始 tRNA も含んでいる)が形成され、ATP 依存的に mRNA 上をスキャンして最初の AUG コドンを開始コドンとして選択する。このように、m7G キャップは真核生物による翻訳開始反応の目印として機能する。

第一志望研究分野	受験番号	氏名

問題4. タンパク質の合成に関する以下の問いに答えよ。(25点)

- 問1. 原核生物のタンパク質合成において、開始コドンとなり得るコドンすべてを解答せよ。
- 問2. 原核生物のタンパク質合成において、翻訳開始部位(開始コドン)が特異的に選択される機構について解答せよ。
- 問3. リボソームは大小二つのサブユニットから構成されている。それぞれのサブユニットの機能について、以下の用語を全て用いて解答せよ。
用語：デコーディング、ペプチジル転移、アミノアシル tRNA、ペプチジル tRNA、A 部位、P 部位
- 問4. 61 種類のコドンを読解するために、生物は少なくとも 32 種類の tRNA を必要とする。このように、tRNA の種類は豊富である一方、それらの立体構造は全て同様の大きさと L 字型構造をとっている。全ての tRNA が類似した立体構造をとる理由について機能的な観点から解答せよ。

解答例

問1. AUG, GUG

問2. 開始コドンの上流約 10 nt の位置を中心に 3~10 nt のプリンに富む配列(シャイン・ダルガーノ配列:SD配列)が存在する。この SD 配列は、リボソーム小サブユニットを構成する 16S rRNA の 3'末端(ピリミジンに富む配列)と部分的に相補的である。この 16S rRNA のピリミジンに富む領域をアンチシャイン・ダルガーノ配列(ASD配列)と呼ぶ。SD配列と ASD配列との間の塩基対合により、リボソーム 30S サブユニットが mRNA の開始コドン上流にリクルートされ、開始コドンが選別される。

問3. リボソーム小サブユニットの主な機能は、遺伝暗号の読解(読取り)、つまりデコーディングである。リボソーム大サブユニットの主な機能は、ペプチジル転移反応の触媒である。小サブユニットのデコーディングセンター(DC)には、保存された A1492, A1493, G530(大腸菌リボソームのナンバリング)があり、コドンとアンチコドンの正確なペアリングを監視して、誤ったアンチコドンをもったアミノアシル tRNA が結合しないようにしている。

リボソームにはアミノアシル tRNA が結合する A 部位、ペプチジル tRNA が結合する P 部位が存在する。DCにおいて正しいアミノアシル tRNA が結合すると、大サブユニットのペプチジルトランスフェラーゼセンター(PTC)にアミノアシル tRNA のアミノ酸部分が配置され、ペプチジル tRNA のペプチジル基が、A 部位のアミノアシル tRNA に転移して、ペプチド結合が延長する。

問4. tRNA は DC で遺伝暗号を読取り、PTC でペプチジル転移反応に関わる。つまり、DC と PTC をまたぐ必要がある。小サブユニットの DC と大サブユニットの PTC の位置関係はリボソーム内において固定されており、それらの位置関係は不変である。そのため、tRNA のアンチコドンとアクセプターステムの位置関係もすべての tRNA で同じである必要があり、結果として、tRNA は種類によらず類似した構造をとるようになったと考えられる。

生物化学分野の修士研究を行うに必要な知識を問うため.