

平成 20 年度 大学院博士前期課程入学試験問題

受験番号

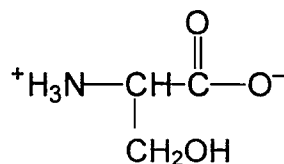
基礎生物化学

問題 1. 以下の問に答えよ。(配点率 35/100)

(1) アミノ酸のイオン化状態は溶液の pH によって異なる。以下に示した pH における各アミノ酸の構造を、そのイオン化状態がわかるように示せ。

(解答例)

pH 7 における Ser の構造 :



- a) pH 1 における Asp の構造
- b) pH 1 における Arg の構造
- c) pH 13 における His の構造
- d) pH 7 における Tyr の構造
- e) pH 7 における Ile の構造

(2) 異なる生物のタンパク質や核酸の配列を比較すると、これらの生物の近縁関係がわかると考えられているが、その理由を述べよ。

(3) あるタンパク質を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) とゲルろかカラムクロマトグラフィーで分析すると、そのサブユニット構造を推定できると考えられているが、その根拠を述べよ。

(4) アロステリック効果とは何か簡潔に説明せよ。また、ヘモグロビンがアロステリック効果を示すメカニズムをその構造に基づいて説明せよ。

(5) タンパク質の安定化に寄与する非共有結合 (相互作用) にはどのようなものがあるか例を挙げて説明せよ。

(6) 陽イオン交換カラムにタンパク質を吸着させる時、カラムを平衡化する緩衝液の pH はカラムに充填されている陽イオン交換樹脂の pKa より高く、タンパク質の等電点より低くしなければならない。では、それ以外の pH ではなぜタンパク質はカラムに吸着しないのか、その理由を述べよ。

問題2. 生体の化学反応のほとんどは、酵素によって触媒されている。下記の文は、そのような酵素について述べたものであるが、各文において誤っている箇所があればそれを指摘し、誤りである理由を述べよ（訂正する必要はない）。誤りがない場合には、その旨答えよ。（配点率 30/100）

- 1) 酵素はタンパク質のみからできている生体触媒である。
- 2) 酵素は、それが触媒する反応の平衡定数を生成物の蓄積しやすい方向に変えることにより、反応効率を上昇させている。
- 3) 酵素のアミノ酸残基にはイオン化するものとししないものがあるが、触媒作用に関与しているのはイオン化した状態のアミノ酸残基のみである。
- 4) 酵素反応の速度はpHを変えてもほとんど変化しないが、それは、水素イオンが直接反応に関与しているわけではないからである。
- 5) 酵素反応は、酵素と基質が酵素-基質複合体を形成することに特徴がある。そのために、基質濃度と反応速度との間に常に比例関係が保たれている。
- 6) 酵素分子の立体構造はX線構造解析により明らかにされている例が多いが、酵素-基質複合体の立体構造はまだ調べられた例がない。それは、酵素-基質複合体の反応の遷移状態の寿命が非常に短いからである。

問題3. 次の文章は、L-アミノ酸の酵素的脱アミノ反応を説明したものである。文章中の下線部(①~⑬)の構造を記せ。(配点率 35/100)

L-アミノ酸は、酵素的アミノ転移により脱アミノされる。すなわち、アミノ基は、他の α -ケト酸に転移し、もとのL-アミノ酸は、対応する α -ケト酸になる。同時にアミノ基を受容した α -ケト酸は、対応するL-アミノ酸になる。本酵素反応には、ピリドキシン(ビタミンB6)が関与する。①ピリドキシンは、②ピリジンの2, 3, 4, 5位の炭素原子に結合した水素原子が、それぞれ、メチル基(2位)、水酸基(3位)、ふたつのヒドロキシメチル基(4, 5位)に置換し、1位の窒素原子がプロトン化した構造を有する。ピリドキシンは、4位のヒドロキシメチル基が酸化されてホルミル基となり、5位のヒドロキシメチル基がリン酸化されて、フォスフォオキシメチル基となった形(③ピリドキサル5'-リン酸(PLP))で活性型の補酵素となる。一連のアミノ転移反応が終了した段階で、PLPの4位のホルミル基は、アミノメチル基に変換され④ピリドキサミン5'-リン酸(PMP)となる。

それでは、PLP依存酵素によるアミノ転移反応機構を、⑤L-アラニンが脱アミノされて、⑥ピルビン酸になる場合を例にとって解説する。反応の最初にPLPは、アミノ転移を触媒する酵素の活性中心近傍のリシン残基の ϵ -アミノ基とシッフ塩基(⑦酵素-PLPシッフ塩基)を形成し、反応準備が整う。L-アラニンのアミノ基が酵素-PLPシッフ塩基の炭素原子を求核攻撃してイミノ転移を起こし、ジアミン中間体を経て、⑧アラニン-PLPシッフ塩基(アルドミン中間体)を形成し、酵素のリシン残基の ϵ -アミノ基は、遊離する。次に、酵素のリシン残基の ϵ -アミノ基がアミノ酸-PLPシッフ塩基のアミノ酸部分の α -水素を引き抜き、カルボアニオン中間体を経て、PLPの4'位の炭素がプロトン化され、⑨ α -ケト酸-PMPシッフ塩基(ケトイミン中間体)となる。ケトイミン中間体は、加水分解され、⑩カルビノールアミン中間体を経て、PMPとピルビン酸を生成する。

⑪L-グルタミン酸は、アミノ転移を受けるだけでなく、グルタミン酸デヒドロゲナーゼの触媒により酸化的に脱アミノしてアンモニアを生じ、⑫2-オキシグルタル酸を生じる。本反応において、L-グルタミン酸は酸化されて⑬2-イミノグルタル酸となり、続いて、加水分解を受け、2-オキシグルタル酸とアンモニアが生じる。