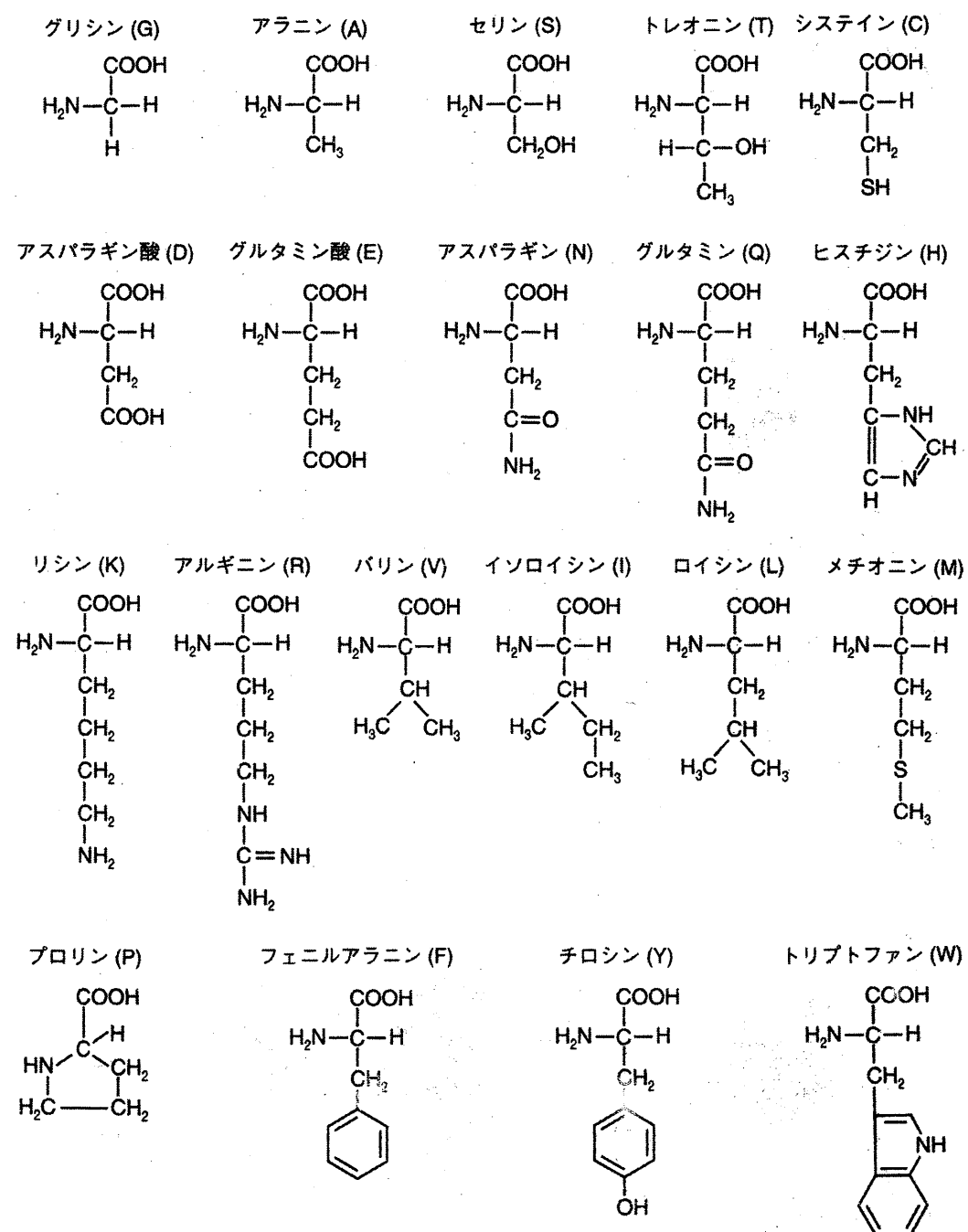


次の問い（問1～6）に答えなさい。

問1. (1) リシン(下図参照)の水溶液における等電点を求めなさい。(2) pH=10.54 および pH=11.24 においてリシン側鎖の ϵ - NH_3^+ 基のおよそ何割が解離して NH_2 になっているか、それぞれ求めなさい。

$\text{p}K_{a1}$ (α - COOH) = 2.16, $\text{p}K_{a2}$ (α - NH_3^+) = 9.06, $\text{p}K_{a3}$ (側鎖の ϵ - NH_3^+) = 10.54 を用いること。必要ならば、 $\log 2 = 0.3$, $\log 5 = 0.7$ を用いなさい。



問2. G+C 含量が 60%で塩基配列が不明の 1 億塩基対の長さの直鎖状二本鎖 DNA があるとする。この DNA を制限酵素 *EcoRI* で消化すると計算上何個の DNA 断片に切断されるかを整数で答えなさい。

制限酵素 *EcoRI* は GAATTC の配列の二本鎖 DNA を特異的に切断する制限酵素である。

問3. (1) 次の二本鎖 DNA を左端から右端まで PCR で増幅したい。適したプライマーを (a) ~ (h) から 2 つ選びなさい。

5' - GTATCCTAGGTAATAAG - - - - - (途中省略) - - - - - CGTAATTCGCTAACGTT -3'
3' - CATAGGATCCATTATTC - - - - - (途中省略) - - - - - GCATTAAGCGATTGCAA -5'

- (a) 5' - CATAGGATCCATTATTC - 3'
- (b) 5' - GAATAATGGATCCTATG - 3'
- (c) 5' - GCATTAAGCGATTGCAA - 3'
- (d) 5' - AACGTTAGCGAATTACG - 3'
- (e) 5' - TTGCAATCGCTTAATGC - 3'
- (f) 5' - CGTAATTCGCTAACGTT - 3'
- (g) 5' - GTATCCTAGGTAATAAG - 3'
- (h) 5' - CTTATTACCTAGGATAC - 3'

(2) (1)の PCR においてうっかりプライマーの一方を反応液に入れ忘れた。二つのプライマーを忘れずに入れた場合と比べて PCR の結果はどうなるか？

問4. あるポリペプチドについて、次の二つのポリペプチド(i)と(ii)がジスルフィド結合でつながっていることは少なくともわかっている。

(i) Ala-Phe-Cys-Glu-Lys-Tyr-Cys-Leu-Arg-Trp-Cys-Asn (ii) Val-Cys-Trp-Met-Arg-Ile-Phe-Gly-Cys-Lys

(1) ジスルフィド結合の数が不明で、どのシステインの間でジスルフィド結合しているのかもわからない場合、ジスルフィド結合の組合せは何通り考えられるか？

(2) どのシステインの間でジスルフィド結合しているのかを調べるため、元のポリペプチドをトリプシンで消化したら次のアミノ酸組成の断片(iii)~(v)が得られた。ここで、例えば(Ala, Cys2)は Ala と Cys とが 1:2 のモル比で得られたことを表す。

(iii) (Ala, Asn, Cys2, Glu, Lys, Phe, Trp) , (iv) (Arg, Cys2, Gly, Ile, Leu, Lys, Phe, Tyr) ,

(v) (Arg, Cys, Met, Trp, Val)

このポリペプチドのジスルフィド結合の位置を答えなさい。

問5. 脂質二重層の基本構造を模式図で示し説明しなさい。

問6. 新奇酵素活性測定法を開発し、酵素活性を指標に動物組織から酵素 X を精製した。各精製段階で全タンパク質量と酵素活性を測定し表のような結果を得た。次の (1)~(3)に答えなさい。

操作	全タンパク質量(mg)	活性(ユニット)
粗抽出	30,000	6,000,000
硫酸アンモニウム沈殿	7,500	4,500,000
イオン交換クロマトグラフィー	300	1,200,000
アフィニティークロマトグラフィー	50	1,100,000
ゲルろ過クロマトグラフィー	45	990,000

(1)各精製操作のうち最も効果的な(直前の操作により得られた分画に比べ酵素 X の比活性が最も上がった)操作はどれか？

- (2)酵素 X はミカエリス・メンテン式に従う単一基質酵素であると思われる。反応速度(v)を基質濃度 [S] =0.1 M および 0.9 M で測定したところほとんど同じであった。基質濃度がかなり異なるにもかかわらず反応速度にほとんど差が見られなかった理由を述べなさい。
- (3)アフィニティークロマトグラフィーによって得られた分画の比活性と、その分画をさらにゲルろ過クロマトグラフィーにかけて得られた分画の比活性との比較から考えられることを述べなさい。
- (4)酵素 X が触媒する反応はある反応系の一つであり、その反応系の最終産物 Y によって酵素 X の活性が阻害される可能性がある。問題文最初に述べた新奇酵素活性測定法を利用し、最終産物 Y が酵素 X の活性を阻害するかどうかを、また、阻害する場合はどのような阻害形式なのかを明らかにしたい。どのような実験を計画すればよいか？

以上

トリ Lys Arg
Phe Tyr Trp Leu) C

以上