

[生物学標準]

以下の問 (1) ~ (7) に答えよ。

<文 1>

2011 年のノーベル生理学・医学賞は自然免疫の研究に対して授与されたが、自然免疫の研究の端緒は 1980 年代の昆虫の生体防御機構の研究にまで遡ることができる。表 1 は、1980 年代初頭に、体表に傷をつけて (したがって、感染の可能性が増した)、ある種の昆虫の体液から大腸菌に対する抗菌作用 (細菌の増殖を抑制する活性) を指標に抗菌ペプチドが精製された際の、精製の過程をまとめたものである。図 1 には精製された抗菌ペプチドの一次構造を、アミノ酸の三文字表記で示す。

表 1 抗菌ペプチドの精製のまとめ

精製の過程	全タンパク質量 (mg)	①比活性 (unit/mg)	活性の回収率 (%)
体液	18,100	0.75	100
②CM-セルロース	156	82	97
セファデックス G-50	8.2	850	51
CM-セルロース	1.1	5500	45
ヒドロキシアパタイト	0.07	27000	14

(Okada and Natori, 1983 より改変)

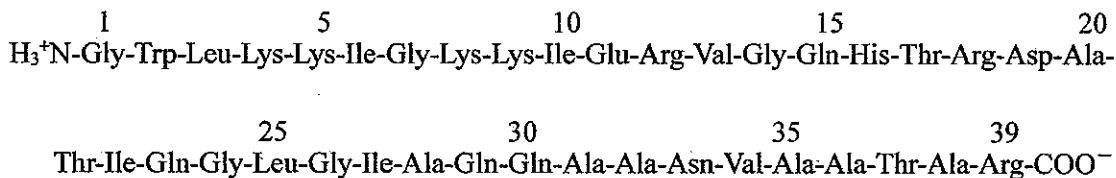


図 1 抗菌ペプチドの一次構造 アミノ酸配列の上の数字は、N 末端からの位置を示す。

- (1) 表 1 の下線部①について、各段階の試料の比活性を調べるためのタンパク質量定量では、簡便な 280 nm の吸光度の測定ではなく、ローリー (Lowry) 法などが用いられる。前者に比べて後者が優れる点を 100 字程度で述べよ。
- (2) 表 1 の下線部②について、CM (カルボキシメチル) -セルロースは陽イオン交換樹脂である。陽イオン交換クロマトグラフィーの原理を 100 字程度で述べよ。
- (3) この昆虫 1 匹当たりの体液量が  $0.050 \text{ cm}^3$ 、体液のタンパク質濃度が 10% (w/v) として、体表に傷をつけたこの昆虫 1 匹の体液中に含まれる抗菌ペプチドの量を、表 1 に基づいて有効数字 3 桁で示せ。なお最終精製標品の純度は 90% で、この昆虫の

体液には1種類の抗菌ペプチドしか存在しないものとする。

- (4) 図1の抗菌ペプチドの一次構造を見ると、N末端側(19番目のアミノ酸まで)は+の電荷をもつアミノ酸が比較的多く、C末端側(20番目から39番目まで)には疎水的なアミノ酸が比較的多い。N末端側の+の電荷をもつアミノ酸とC末端側の疎水的なアミノ酸を全て取り上げ、それぞれ三文字表記で示せ。

<文2>

精製した抗菌ペプチドを大腸菌培養液に添加したところ、次の結果が得られた。

- A. 大腸菌の生存率は、数分で無処理に比べて数%に減少した。
  - B. 電子顕微鏡による観察では、抗菌ペプチドを作用させても菌体そのものは破壊されていなかった。
  - C. ATP合成が大幅に低下し、大腸菌内ATP濃度は数分で無処理の約10%に低下した。
  - D. 大腸菌へのプロリン(proline)の取り込みは生体膜の膜電位に依存するが、このプロリンの取り込みが、ほぼ完全に抑制された。
  - E. 大腸菌内の $K^+$ が数分で大腸菌外に漏出した。
  - F. 呼吸(電子伝達と、その結果生じる酸素消費)は大きな影響を受けず、大腸菌の酸素消費量は、大腸菌が増殖能を失った後でも無処理と有意な差はなかった。
- (5) 結果Dから、抗菌ペプチドを作用させた大腸菌の膜電位はどのようになっていると推察されるか。20字程度で述べよ。
- (6) この抗菌ペプチドは大腸菌の細胞膜に障害を与えることで抗菌作用をもつと考えられる。結果B~Fから考えて、どのような障害か考察し、その障害により上記の結果がどのように説明されるか、合わせて120字程度で述べよ。なお、この抗菌ペプチドは酸化的リン酸化に関わるタンパク質とは相互作用しないものとする。
- (7) 図1の抗菌ペプチドの一次構造を参照して、この抗菌ペプチドが問(6)で解答したような細胞膜障害性をもつ理由を100字程度で述べよ。