

[生物化学]

以下の文の下線①～⑦の記述に関して、問（１）～（７）に答えよ。

タンパク質の配列解析においては、①免疫沈降法や②ゲル電気泳動法、③カラムクロマトグラフィー法などの方法によって目的のタンパク質を単離したのち、ペプチドマスフィンガープリンティング（PMF）法などの方法によってアミノ酸配列を決定できる。PMF法においてはトリプシンなどの④プロテアーゼによりタンパク質を消化したのち⑤質量分析を行い、得られた各断片の質量の組み合わせからタンパク質を同定する。

一方で、目的の⑥RNAの配列解析においては、RNAを⑦逆転写しPCR法で選択的に増幅することが可能であるため、必ずしもタンパク質の場合のように単離精製を行わなくても配列を決定することができる。

- (1) 免疫沈降法においては、モノクローナル抗体を用いる場合とポリクローナル抗体を用いる場合がある。モノクローナル抗体を用いる場合の利点を、ポリクローナル抗体を用いる場合と比較して50~100字程度で説明せよ。
- (2) タンパク質のゲル電気泳動においては、ゲル中にドデシル硫酸ナトリウム（SDS）のような界面活性剤を加えることが一般的である。この場合のSDSの役割について50~100字程度で説明せよ。
- (3) タンパク質精製に用いられるカラムクロマトグラフィーとして、さまざまな原理に基づくものが開発されている。どのようなクロマトグラフィーの手法があるか、その名称を三つ挙げよ。
- (4) 以下の問（a）、（b）に答えよ。
 - (a) 生体高分子を加水分解する酵素群として、タンパク質を分解するプロテアーゼ、核酸を分解するヌクレアーゼ、脂質を分解するリパーゼなどが知られており、これらのうちプロテアーゼはタンパク質中のアミド結合（＝ペプチド結合）を選択的に切断する。ヌクレアーゼが選択的に切断する化学結合の名称およびリパーゼが選択的に切断する化学結合の名称をそれぞれ答えよ。
 - (b) プロテアーゼはいったん活性のない前駆体として生合成されたのち、活性型へと変換されることが多い。その理由として最も適切なものを以下の（ア）～（ウ）より選べ。
 - （ア）プロテアーゼの基質選択性を高めるため
 - （イ）プロテアーゼの生合成の際のフレームシフトを抑制するため
 - （ウ）プロテアーゼを合成する組織自身が分解されてしまうことを防ぐため

- (5) 以下のような配列のタンパク質（ポリペプチド）を，塩基性アミノ酸の C 末端側を選択的に切断するトリプシンで消化したのち，エレクトロスプレーイオン化質量分析による測定を行ったところ，三つの断片が 3 価のイオン ($[M + 3H]^{3+}$) として検出された．三つの断片の配列を全て記述せよ．また，三つの断片のうち最も短いものについて，モノアイソトピックピークの m/z 値を以下の (ア) ~ (オ) より選べ．ただし，アミノ酸のモノアイソトピック質量は以下の表 1 を参照のこと．また，水分子およびプロトンのモノアイソトピック質量は 18.01 および 1.01 とする．

<配列>

AGDSPLYFVQAKSSIENPTGFFRSNQTVLMGW

< m/z 値>

(ア) 345.84 (イ) 840.44 (ウ) 1037.52 (エ) 397.87 (オ) 280.15

表 1. アミノ酸のモノアイソトピック質量

グリシン(G)	75.03	アスパラギン酸(D)	133.04
アラニン(A)	89.05	グルタミン(Q)	146.07
セリン(S)	105.04	リジン(K)	146.11
プロリン(P)	115.06	グルタミン酸(E)	147.05
バリン(V)	117.08	メチオニン(M)	149.05
トレオニン(T)	119.06	ヒスチジン(H)	155.07
システイン(C)	121.02	フェニルアラニン(F)	165.08
イソロイシン(I)	131.10	アルギニン(R)	174.11
ロイシン(L)	131.10	チロシン(Y)	181.07
アスパラギン(N)	132.05	トリプトファン(W)	204.09

- (6) RNA はアルカリ水溶液中で加熱すると，容易にヌクレオシド-リン酸へと加水分解される．一方で，DNA はこのような処理に対して比較的安定である．このような違いが生じる理由を 100~200 字程度で説明せよ．
- (7) 生体内の RNA から逆転写反応および PCR によって増幅した DNA を解析しても，必ずしも元の RNA の配列を反映していないことがある．そのようなことが生じる理由を一つ挙げ，50~100 字程度で述べよ．