

## 章末問題 解答例

### 序 章

- 0-1. 浸透圧とは、半透膜を隔てて仕切られた濃度の異なる溶液が均一になるろうとするポテンシャルによって生じる圧力である。細胞膜は半透膜の性質をもつので、細胞内外の浸透圧が異なると、細胞が破裂したり収縮したりする。
- 0-2. 炭素は、C-C の結合が安定であるが、Si-Si の結合は酸素によって容易に破壊され、Si-O-Si の結合が安定である（この結合でできたものがシリカゲルである）。また、ケイ素原子が多数連なった長い鎖は簡単には合成できない。したがって、少なくとも地球上ではケイ素を主体とする生物は存在しにくいと考えられる。
- 0-3. 緩衝液とは、外部から少量の酸やアルカリが侵入してもその pH が変化しにくい溶液である。一般にタンパク質、特に酵素の機能は pH の影響を受けやすいので、正常な生理機能維持には細胞内の pH を一定に保つ必要がある。
- 0-4. 植物は太陽光のエネルギーを利用して（光栄養生物）、大気中の CO<sub>2</sub> をグルコースなどの炭水化物に変える。この働きを炭酸同化という。CO<sub>2</sub> のような単純な物質をグルコースのような複雑な物質に作りかえるには、エネルギーが必要である。生物は高エネルギー物質 ATP（糖質の代謝等によって合成される）を利用したり、エネルギーを放出する反応（発エルゴン反応）を共役させることで、自発的には起こらないエネルギーが必要な反応を可能にしている。
- 0-5. 大きな違いは、真核生物が核や細胞小器官をもつのに対して、原核生物はもたないことである。また、一般に原核生物は単細胞生物で

ある。

- 0-6. 生命の基本である DNA, RNA, アミノ酸などが同じである（共通である）。
- 0-7. 核, ミトコンドリア, 葉緑体, 小胞体, ゴルジ体, リソソーム, ペルオキシゾームなど (p. 8-12 を参照)。
- 0-8. 細胞が大きくなると、細胞膜などの強度的な問題が発生する。また、多細胞生物においては細胞が分化し、さまざまな機能をもった細胞が集まることによって一つの個体を形成している。

### 第1章

- 1-1. リジン (pI=9.08), ヒスチジン (pI=7.69), アスパラギン酸 (pI=2.95), セリン (pI=5.70)
- 1-2. ネイティブなタンパク質の高次構造は、一次構造、二次構造、三次構造、および四次構造の四つのレベルからなる。タンパク質のアミノ酸配列を一次構造という。二次構造は短限定されたポリペプチド鎖の領域においてみられる構造で、 $\alpha$ ヘリックスや $\beta$ シートがある。三次構造は一本のポリペプチド鎖のとする三次元構造であり、多くのタンパク質はモチーフの組み合わせたドメインと呼ばれる構造単位からなる。四次構造は二つ以上のポリペプチドからなるオリゴマータンパク質のサブユニットの空間的配置をいう。
- 1-3. 一般にタンパク質には親水性領域と疎水性領域が混在するが、新生タンパク質においては一時的に疎水性領域も表面に露出する。タンパク質同士の疎水性領域がランダムに相互作用して不溶性の凝集体をつくりやすいことから、タンパク質の疎水性領域同士の凝集を防ぎ、ネイティブな構造をとらせるために分子シャペロンが働いている。
- 1-4. タンパク質を、界面活性剤である SDS で処

理すると、SDS がタンパク質 1g あたり約 1.4g の割合で結合するので、タンパク質は伸びたペプチド鎖として単位質量あたりほぼ同様の負の電荷をもつことになる。このタンパク質を SDS を含むポリアクリルアミドゲル中で電気泳動 (SDS-PAGE) にかけてポリアクリルアミドゲルの分子ふるい効果によりタンパク質をその大きさによって分離することができる。

- 1-5. タンパク質をフェニルイソチオシアネートで処理すると、N 末端アミノ酸のアミノ基と反応しフェニルチオカルバミル付加物が生成される。この化合物に無水トリフルオロ酢酸を作用させて N 末端アミノ酸をチアゾリジン誘導体として遊離させ、これを酸性条件下で安定なフェニルチオヒダントイン誘導体に変えて同定する。エドマン分解を繰り返すとペプチドの N 末端アミノ酸配列を順次決定できる。
- 1-6. 多くのタンパク質はモチーフの組み合わさったドメインと呼ばれる構造・機能単位からなる。ドメインは数百種類存在するが、地球上の生物は共通の物質のあり合わせの寄せ集めによって生存に有利な生物が生き残り進化をとげてきたと考えられることから、ドメインの組合せによって生存に有利なタンパク質をもつ生物が進化を通して生き残ってきたと考えられる。
- 1-7. タンパク質の生物活性には、タンパク質のネイティブな立体構造が必要である。熱や化学処理によってタンパク質のネイティブな立体構造が破壊されると生物活性が消失するが、この変性に必要なエネルギーは水素結合を数個壊すのに必要なエネルギーで充分であり、ペプチド結合は破壊されない。
- 1-8. 分子シャペロンは細胞質のみならず、小胞体、

ミトコンドリア、核などに存在し、それぞれの細胞小器官のなかでのタンパク質のホールディング、高次構造の形成、タンパク質の修復、活性制御、輸送、および分解などにかかわっていると考えられる。

## 第 2 章

- 2-1. アルドースは分子内にアルデヒドと複数のヒドロキシ基をもち、ケトースはケトンとヒドロキシ基をもち、六単糖であるグルコースは六員環の構造をもつが、フルクトースは、同じ六単糖でありながら五員環の構造をとる。
- 2-2. エナンチオマー：D-グルコースと L-グルコースの関係、鏡像関係。  
エピマー：D-グルコースと D-ガラクトースや D-マンノースの関係、一つの不斉炭素の配置のみが異なる。  
アノマー： $\alpha$ -D-グルコースと  $\beta$ -D-グルコースの関係、1 位の炭素のヘミアセタールのヒドロキシ基の配置が異なる。
- 2-3. セルロースは  $\beta$ -D-グルコースが結合したもので、デンプンは  $\alpha$ -D-グルコースが結合したものであり、その結合様式の違いによってそれぞれ疎水性、親水性の違いが現れる。また、哺乳動物は  $\beta$ -グリコシド結合を切断する酵素をもたないので、セルロースをグルコースにできず、したがって栄養分にもならない。
- 2-4.  $\alpha$ -D-マンノースは水溶液中において、平衡反応によって直鎖状の構造を経由して、 $\beta$ -D-マンノースに変化したから。
- 2-5.
  - 1) エネルギー源 (グルコース)
  - 2) 細胞や組織の保護成分 (植物のセルロース、甲殻類のキチン、細菌のペプチドグリカン)

3) 細胞の認識 (血液型物質, レクチン認識糖鎖)

第3章

- 3-1. 糖質やタンパク質にはそれぞれ共通した構造があるが、脂質全体としては共通構造がない。脂質の定義は、「水に溶けにくい (有機溶媒で抽出される) 生体成分」である。ただし、リン脂質やステロイドなどカテゴリーのなかでは共通構造をもつ。
- 3-2. 中性脂肪は、グリセリンに3個の脂肪酸がエステル結合したもので、水には難溶性、体内のエネルギー源として利用される。グリセリン脂質はグリセリンに2個の脂肪酸とリン酸とアミノ酸やアルコールなどが結合したものであり、両親媒性で生体膜を構成する成分である。
- 3-3. 飽和脂肪酸は直鎖状の構造をしているので、これで構成されるリン脂質が形成する膜は密に詰まった堅い膜となる。一方、不飽和脂肪酸は二重結合の部分で折れ曲がっているので密に詰まることができず、柔らかい膜ができる。柔らかい膜のほうが外圧に対して抵抗性を示す。すなわち柔軟で壊れにくい膜ができる。
- 3-4. 中性脂肪はエステルなので、アルカリによって加水分解され、脂肪酸とグリセリンになる。脂肪酸は酸性なので、反応過程でアルカリと反応して (水酸化ナトリウムを使用すれば) ナトリウム塩となる。脂肪酸のナトリウム塩は、炭化水素の疎水性部分と塩の親水性部分をもち、両親媒性で、界面活性剤すなわち石けんの性質をもつ。
- 3-5. 細胞膜成分やホルモンとしての働きなど (p. 46-47 参照)。

第4章

- 4-1. ミセルは、界面活性剤などがとりやすい構造で、外側に親水性、内側に疎水性部分をむけた球状構造をしている。内部に油などの疎水性物質を取り込むことができる。一方、リポソームは、リン脂質などの立体障害の大きい脂質によって構成される脂質二重膜であり、外側はミセルと同じであるが、内側にも親水性部分があり、内部に水溶性物質を閉じこめることができ、細胞のモデルともいえる構造である。
- 4-2. フリップ-フロップ拡散は、脂質の親水性の部分が疎水性の内部を通過して反転しなければならないので、大きなエネルギーが必要で起こりにくい。通常はフリッパーゼという酵素の触媒が必要である。
- 4-3. 細胞膜を構成するリン脂質は親水性部分と疎水性部分を有する。これを水に添加すると親水性部分が水と接し、内部に疎水性部分をもつ二重膜が形成される。さらに膜の末端にも疎水性部分があるので、末端同士が融合することで、袋状の閉鎖膜性を形成する。これが細胞のモデルとなる。
- 4-4. コレステロールは、細胞膜に存在する不飽和脂肪酸を含む脂質の隙間に入ることで、脂肪酸同士の疎水結合を増加させると考えられる。それによって、膜の流動性が低下する。
- 4-5. 赤血球を無傷のまま処理しても分解されないことから、細胞膜の内側に存在するタンパク質である。膜分面に存在することから膜タンパク質であり、その状態でタンパク質分解酵素分解されるので、膜表面に存在する膜タンパク質である。さらに、濃い塩濃度溶液で抽出されることから、膜内在性ではなく膜表在性のタンパク質である。
- 4-6. 細胞膜の脂質二重層の中は疎水性である。し

たがって、親水性の物質がそこを通過するには大きなエネルギーが必要であるが、疎水性の物質は比較的容易に通過できる。

## 第5章

- 5-1. 微小管はチューブリン二量体単位が重合してできる堅い中空の管である。中心体を起点にして伸びたものについては、それに沿って細胞小器官の移動が行われ、細胞内秩序を維持する働きをしている。真核細胞の繊毛や鞭毛運動にも関わっている。
- 5-2. 細胞のアメーバ運動、細胞の収縮、細胞の分裂の時に細胞膜を引きよせ細胞を二つに分けるなどの働きがある。
- 5-3. 中間径フィラメントはアクチンフィラメントと微小管の中間の直径をもち、これら三種類の細胞骨格繊維のなかでは最も耐久性が強く、ほとんどの動物細胞に存在するが、外力にさらされる皮膚などの細胞質に特に多い。
- 5-4. トランスポーターが酵素のように分子を認識して輸送を行うのに対して、チャネルはゲートのように、一度に大量の物質（イオン）を出し入れする。トランスポーターが GLUT1 のように酵素反応に近い機構をとるのに対して、チャネルの応答はミリ秒単位で起こり、開口状態もミリ秒単位と、非常に速い反応である。さらに、イオンチャネルは基質の濃度が高くなっても飽和性を示さず、速度は最大にならない。
- 5-5. 細胞膜に存在する受容体のリガンドはアミノ酸の代謝物やペプチドなど水溶性であり、情報が何らかの二次的な伝達機構によって細胞内あるいは核内へ伝達される。それに対して、核内受容体のリガンドは、細胞膜さらには核膜を通過して、受容体と結合しなければならず、ステロイドホルモンや脂溶性ビタミン

など疎水性のものである。核内受容体は受容体自身が直接 DNA（遺伝子）に結合して働くものが多い。

## 第6章

- 6-1. ヌクレオシドとヌクレオチドの共通点は、ともにプリンまたはピリミジン塩基に五単糖の D-リボースあるいは 2-デオキシ-D-リボースが  $\beta$ -N-グリコシド結合していることである。相違点は、ヌクレオチドはヌクレオシドの糖にリン酸がエステル結合したものであるが、ヌクレオシドはリン酸基をもたないことである。
- 6-2. 共通点は、DNA と RNA はともに核酸塩基、五炭糖とリン酸により構成される。相違点は、DNA は核酸塩基にアデニン、チミン、グアニン、シトシンを含み、五炭糖はデオキシリボースであり、二本のポリヌクレオチド鎖は相補的塩基対を形成して、二重らせん構造をとる。一方、RNA は核酸塩基にチミンの代わりにウラシルを含み、五炭糖はリボースであり、1本鎖である。
- 6-3. DNA は生理的な条件下では B 型の立体構造をとる。B 型 DNA は右巻きの二重らせんであり、直径 2 nm、一回転の長さは 3.4 nm でその間に 10 塩基対が存在する。また、二重らせんには DNA の塩基配列が認識される二つの溝、主溝と副溝がある。
- 6-4. DNA 溶液を加熱したりアルカリ溶液を加えると、相補的塩基対の水素結合が切れるために二重らせんが 1 本鎖に解離する。二重らせん DNA では疎水性の塩基は 2 本鎖の内部に向いているが、1 本鎖に解離されると塩基が露出されるため塩基特有の 260 nm 付近の紫外線吸収が増加する。AT と GC はそれぞれ 2 と 3 個の水素結合により相補的塩基対を形成

しているので、ATに富んだDNAはGCに富んだDNAに比べて融解温度が低くなる。

- 6-5. リボソームRNAは、リボソームタンパク質とともにリボソーム構成する主要な成分であり、細胞全RNAの約80%を占める。トランスファーRNAはmRNAのコドンに対応するアミノ酸を運ぶアダプター分子であり、20種類のアミノ酸に対応するtRNA分子が存在し、細胞全RNAの約15%を占める。メッセンジャーRNAはDNA上の遺伝子から転写されタンパク質に翻訳されるRNAである。mRNAは一般に細胞全RNAの3-5%を占めるが、その分子種や細胞内量は細胞の種類や分化、発育、代謝状態によって異なり、非常に多様で不均一である。低分子RNAは20-300ヌクレオチド長のRNAで、まだ不明な点も多いが、mRNAのスプライシングや、遺伝子の発現調節に関与している。
- 6-6. ナクレオソームの直径は約10nmであり、10nm繊維を形成する。ナクレオソームはらせん構造やジグザグ構造をとり、30nm繊維を形成する。30nm繊維はさらに、スカッホードに結合し大きなループ構造を形成する。スカッホードの周りにループが結合すると直径1 $\mu$ mの構造体となり中期染色体の直径と一致する。二重らせんDNAはこれらの高次構造により約1万倍に凝縮される。
- 6-7. 地球上に出現した核酸は、まず自己触媒作用をもつRNAが出現し、ついでDNAが出現したと考えられる。現在、多くの生物において、DNAは遺伝情報の保存に、RNAは遺伝情報の発現に用いられているが、これはDNAがRNAより化学的に安定であるため、生物は進化を通してDNAを遺伝情報の保存のために選択したと考えられる。
- 6-8. 2分子のヌクレオチドが脱水縮合されて結合

するとジヌクレオチドが生成されるが、ジヌクレオチドはそれぞれのリボース、あるいはデオキシリボース残基の3'と5'位がホスホジエステル結合でつながっている。さらに多くのヌクレオチドがつながるとポリヌクレオチドができるが、一方の端は5'末端、その反対側は3'末端であり、そのため5' $\rightarrow$ 3'のような方向性ができる。

## 第7章

- 7-1. 酵素を含め触媒は遷移状態を安定化し、つまり活性化エネルギーを低下させることにより反応の進行を容易にするが、酵素には一般的な化学触媒とは異なるいくつかの特徴がある。まず、酵素はおもにタンパク質で構成されているため、タンパク質が変性する条件では失活する。次に、触媒する反応に対する酵素の特異性が非常に高く、一つの酵素が触媒する反応や基質(反応に用いる物質)はきわめて限定的である。この性質により、酵素は生体内で副産物を生じることなく、目的の物質をすばやく整然と生合成することができる。第三の特徴は、酵素の触媒活性は生体がさらされるさまざまな環境の変化に応じて量的にも質的にも調節されることである。これらの調節機構により、生体は多種多様の状況に応じた調和のとれた代謝を行っている。最後に、酵素はきわめて高性能の触媒であり、常温、常圧などの温和な環境下でも反応を進行させることができることがあげられる。
- 7-2. 酵素反応は、基質の酵素への結合から始まるが、この結合はきわめて限定的である。このような酵素の特性を基質特異性と呼び、これを説明するため、「鍵と鍵穴モデル」および「誘導適応モデル」が提唱された。「鍵と鍵

穴モデル」では、酵素と基質の関係を「鍵と鍵穴」の關係に類似したものとして表現される。すなわち、酵素には特定の基質のみと結合する鍵穴のような構造があり、他の基質とは結合できないと考えている。一方、「誘導適合モデル」は、酵素が最初から基質にぴったり結合するのではなく、基質と弱く結合した後、基質との結合状態を保ちながらその立体構造が変化し、基質との結合や触媒作用またはその両方に都合がよい状態になるというものである。すなわち、一つの酵素が一種類の基質としか結合できないのではなく、ある程度の構造の違いをもつ数種類の基質と結合したのち、酵素の構造が変化し、基質との結合や触媒作用またはその両方に都合がよい状態になると考えたものだ。

7-3. 表 7.1 を参照。

7-4. これまでに知られている酵素の 4 分の 1 以上は、完全な触媒活性を発揮するために金属イオンを必要とする。酵素と金属イオンの結合には、補酵素の場合と同様に強弱がある。金属酵素とは、アルギナーゼやアスコルビン酸化酵素のように、酵素に金属イオンが積極的に結合して基質との結合や活性部位の立体的配位に重要な働きをするなど、金属イオンが不可欠な因子となっている酵素をいう。

7-5. 拮抗阻害では、酵素の活性部位に阻害剤が可逆的に結合し、基質の酵素への結合を妨げることで酵素活性が抑制される。そのため、一定量の阻害剤が存在しても基質濃度を高めることによって阻害効果は小さくなり、ついには酵素反応に対する阻害剤の影響がなくなる。つまり、基質濃度-反応速度曲線において  $V_{max}$  は影響を受けない。一方、拮抗阻害剤は酵素に対する基質の親和力を低下させるので、 $K_m$  は大きくなる。

7-6. 可逆的阻害は拮抗阻害、非拮抗阻害および非拮抗阻害に大別される。

拮抗阻害では、阻害剤が基質と競合して酵素に結合することにより酵素-基質複合体の形成が妨げられるため、酵素に対する基質の親和力が低下し  $K_m$  は大きくなるが、 $V_{max}$  は影響を受けない。

非拮抗阻害では、阻害剤が酵素の活性部位以外の部位に結合することによって酵素活性を抑制する。この阻害様式では、酵素に対する基質の親和力は影響を受けないため  $K_m$  は変化しないが、阻害剤が結合している酵素-基質複合体からは生成物ができないため  $V_{max}$  は減少する。

非拮抗阻害は非拮抗阻害とは異なり阻害剤が遊離酵素には結合せず酵素-基質複合体とのみ結合することで引き起こされる。一部の酵素が不活性な酵素-基質-阻害剤複合体となることから  $V_{max}$  は減少する。また、酵素-基質-阻害剤複合体からの基質の遊離が阻害剤の遊離に依存するため、見かけ上の酵素に対する基質の親和力が増加し、 $K_m$  は減少する。

7-7. ある種の酵素は触媒活性をもたない酵素前駆体タンパク質として合成され、必要に応じて活性化される。このような酵素前駆体をチモージェン、あるいはプロエンザイムという。このような例は、消化酵素などのプロテアーゼにおいてよく知られている。食物消化が間欠的に行われるため、消化酵素は常時必要ではないが、食物摂取後に合成されるのでは食物の消化が滞る。また、これらの酵素が常時活性をもつことは、その産生組織を自己消化の危機にさらすことにもなる。それゆえ、これらの酵素が酵素前駆体として産生され、必要ときに活性化されることが生体にとって都合がよい。

7-8. ある種の酵素は基質が結合する活性部位に加え、他の物質が結合して触媒活性に変化をもたらす調節部位をもっている。このような酵素をアロステリック酵素といい、この酵素に結合する物質をアロステリックエフェクターと呼ぶ。

一連の酵素反応が進行する代謝経路では、その経路の最終産物とその代謝経路の最初の段階や分岐後の最初の段階の酵素をアロステリックに阻害することにより、無駄な中間代謝物の産生を抑制している場合がよくみられ、このようなタイプの阻害をフィードバック阻害という。

アロステリック酵素はミカエリス-メンテンの式には従わず、基質濃度と反応速度の関係はS字状となる。

7-9.

(1) 表 1 に示された基質濃度と反応速度の逆数を計算して、ラインウィーバー・バークプロットを書き、最大反応速度 ( $V_{max}$ ) およびミカエリス定数 ( $K_m$ ) を求めるか、ミカエリス-メンテンの式 (式 7.7) に、表 1 のうち、二つの条件の値を代入して、阻害剤非存在下および存在下の  $V_{max}$  および  $K_m$  を計算する。

阻害剤非存在下:  $K_m = 1\mu\text{M}$ ,  $V_{max} = 2 \text{ nmol/min}$ ,

阻害剤存在下:  $K_m = 1\mu\text{M}$ ,  $V_{max} = 1 \text{ nmol/min}$

(2) 阻害剤の存在により、 $K_m$  は影響を受けないが、 $V_{max}$  は小さくなるので、非拮抗阻害である。

(3) 非拮抗阻害の場合、阻害剤の濃度を増加させても基質の酵素への結合を妨げられないので、 $K_m$  は影響を受けない。一方、 $V_{max}$  は阻害剤の濃度の増加にともない、阻害剤が結合していない酵素-基質複合体の量が減少するため、小さくなる。

7-10. LDH<sub>1</sub> と LDH<sub>5</sub> の違いは、LDH<sub>1</sub> は低濃度のピルビン酸により強く阻害されるが、LDH<sub>5</sub> は高濃度のピルビン酸存在下においても阻害を受けない点にある。このような性質の違いにより、心臓など好氣的な臓器では、解糖により生じたピルビン酸によってLDH<sub>1</sub> が阻害されて乳酸産生が抑制されるとともに、ピルビン酸がクエン酸回路に導入されて効率よくエネルギーを得ることができる。一方、筋肉では嫌氣的な条件下においてもエネルギーを得なければならないが、解糖により生じたピルビン酸をLDH<sub>5</sub> が乳酸に変換することで解糖に必要な NAD<sup>+</sup> を再生する。このため筋肉は嫌氣的な条件下においてもグルコースが存在する限り解糖が持続できる。また、肝臓ではLDH<sub>5</sub> が存在することにより筋肉で生成され運搬されてきた乳酸をピルビン酸に変換し、糖新生に用いる。

## 第 8 章

8-1. 腸内細菌により合成されるものは、水溶性ビタミンとして、ビタミンB<sub>2</sub>、パントテン酸、ビタミンB<sub>6</sub>、葉酸、ビオチン、ビタミンB<sub>12</sub> の六種類があり、脂溶性ビタミンとしてビタミンKがある。

8-2. ビタミン A の欠乏は夜間の視力障害を引き起こし、夜盲症となる。さらに欠乏すると、上皮組織細胞のケラチン化とそれに付随する粘液分泌の低下を生じる。一方、必要適量をこえて長期間摂取すると、催奇形性、脳内圧上昇、肝障害などの過剰症状が現れる。

8-3. ビタミン K はポリペプチド鎖のグルタミン酸残基をカルボキシル化する反応の補酵素として働く。数種類の血液凝固因子はビタミン K 依存性のカルボキシラーゼによりグルタ

ミン酸残基がカルボキシル化されることにより  $\text{Ca}^{2+}$  結合部位が形成され活性化される。

#### 8-4. ナイアシン, リボフラビン

ナイアシンは, 生体内ではニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) およびニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸 ( nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP) に変換されて酸化還元酵素の補酵素として糖質, 脂質およびアミノ酸代謝など多くの代謝経路に関与している。一方, リボフラビンは, フラビンモノヌクレオチド (flavin mononucleotide, FMN) またはフラビンアデニンジヌクレオチド (flavin adenine dinucleotide, FAD) となり, 酸化還元反応を触媒するアポ酵素タンパク質に結合して作用する。FMN または FAD を補欠分子族とする酸化還元反応酵素をフラビン酵素という。

8-5. 葉酸は生体内で還元され 5,6,7,8-テトラヒドロ葉酸 (5,6,7,8-tetrahydrofolate, THF) となって, ホルミル基やメチル基など炭素 1 原子単位の転移反応に関与している。このような炭素 1 原子単位の転移反応は, 生体成分の生合成過程でよく認められ, DNA 合成に必要なチミジル酸の生合成やプリン塩基の生合成などがある。そのため, 葉酸が欠乏すると, DNA 合成障害に起因する赤血球形成障害により貧血が引き起こされる。

8-6. (a)脚気, (b)ペラグラ, (c)壊血病, (d)くる病, (e)悪性貧血

8-7. (a)ビタミンB<sub>6</sub>, (b)ビタミンC, (c)ビオチン, (d)パントテン酸

※「ベーシック生化学」第1刷では, (a)の問題文がビタミンBとなっており, 解答が存在しませんでした。誤植を謹んでお詫び申し上げます。ご不便をおかけし, 申し訳ありません。

## 第9章

9-1. ある系のなかで自発的な反応が起きたとき, 全体のエネルギー変化 (これをエンタルピー変化といい,  $\Delta H$  と表す) は, 仕事として利用可能なエネルギー変化 (これをギブスは  $\Delta G$  と表した) と, 仕事としては利用できないエネルギー変化 ( $T\Delta S$ ) の和であると定義される。式で表すと,

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S$$

となる。

ここで,  $T$  は絶対温度,  $\Delta S$  は反応の前後でのエントロピー (無秩序さ) の変化を表す。 $\Delta G$  がギブスの自由エネルギー変化であり, ここでいう「自由 (free)」というのは「束縛されていない」, 「利用可能な」という意味である。

上の式を変形すると,

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

となる。自発的に起こる反応では,  $\Delta G$  は負になる。

9-2. クレアチンリン酸  $\rightleftharpoons$  クレアチン+リン酸

$$\Delta G^\circ = -43.1 \text{ kJ/mol}$$

平衡定数  $K_{\text{eq}} =$

$$\frac{[\text{クレアチン}]_{\text{eq}} \times [\text{リン酸}]_{\text{eq}}}{[\text{クレアチンリン酸}]_{\text{eq}}}$$

(対数計算の基礎知識が必要である。関数電卓を用意)

式 (9.4) は,  $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{eq}}$

これを変形して,  $\ln K_{\text{eq}} = -\Delta G^\circ / RT$

まず, 右辺に数値を代入して計算する。

$$-(-43.1 \times 1000 \text{ J/mol}) / (8.31 \text{ J/mol}) (273+37) = 16.73$$

したがって,  $\ln K_{\text{eq}} = 16.73$ ,

ゆえに,  $K_{\text{eq}} = e^{16.73} = 1.85 \times 10^7$

平衡状態では, クレアチンリン酸はほとんどが加水分解していることになる。

9-3. 反応式  $aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$  の場合の自由エ

エネルギー変化は次のように表すことができる。

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln([C]^c[D]^d/[A]^a[B]^b)$$

アルコール発酵 ( $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$ ) の場合は、

$\Delta G$

$$= \Delta G^0 + RT \ln([CH_3CH_2OH]^2[CO_2]^2/[C_6H_{12}O_6])$$

となる。

まず、対数 (ln) の中を計算する。各分子の濃度を代入すると、

$$[30 \times 10^{-3}]^2 [2 \times 10^{-3}]^2 / [50 \times 10^{-3}] = 7.2 \times 10^{-8}$$

したがって、 $\ln(7.2 \times 10^{-8})$

$$= \ln(7.2) + \ln(10^{-8})$$

$$= \ln 7.2 + (-8 \ln 10)$$

$$= 1.97 - 8 \times 2.3$$

$$= 1.97 - 18.4 = -16.43$$

ゆえに、

$$\Delta G = -167 \text{ kJ/mol} + 8.31 \text{ J/mol} \times 10^{-3} \times (273+37)$$

$$\times (-16.43)$$

$$= -167 - 42.3 = -209.3 \text{ kJ/mol}$$

#### 9-4. $ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi$

(Piは無機リン酸を表し、iはinorganicの意)

式(9.2)から

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln([ADP][Pi]/[ATP])$$

( $H_2O$ の濃度を1として考える)

ATP加水分解の標準自由エネルギー変化 ( $\Delta G^0$ )は、 $-30.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ である(表9.1)。

上の式に各分子の濃度を代入すると、

$$\Delta G = -30.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} + (8.315 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$$

$$\times 10^{-3} \times (310 \text{ K}) \ln\{(1 \times 10^{-3})(4 \times 10^{-3})/(5 \times 10^{-3})\}$$

$$= -30.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} - 18.4 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$= -48.9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

となる。

9-5. 高エネルギー化合物とは、分解にともなって大きな自由エネルギーを放出する物質のこ

とである。ATPが高エネルギー化合物といわれる理由は、以下の三つにまとめられる。

① 三つのリン酸基に結合している酸素原子が負の電荷をもつために、結合時にはお互いの静電的反発が大きい。加水分解することでその反発力が小さくなるため(ただし、実際には細胞内では $Mg^{2+}$ がATPの酸素原子の電荷をある程度中和している)。

② 加水分解による生成物(ADPとPi)はATPよりも溶媒和されやすいため。

③ 加水分解された生成物のほうがATPよりも共鳴安定化されやすいため。ATPでは、酸素原子の孤立電子対の非局在化があまり効果的ではない。リン酸無水結合が切断されると、孤立電子対がより効果的に非局在化できるようになる。

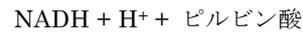
9-6. この反応式では、銅イオン( $Cu^+$ )が電子供与体、鉄イオン( $Fe^{3+}$ )が電子受容体となる。

1) 電子は銅イオン( $Cu^+$ )から鉄イオン( $Fe^{3+}$ )へ移動した。

2) 鉄イオン( $Fe^{3+}$ )が酸化剤、銅イオン( $Cu^+$ )が還元剤。

3) 酸化剤( $Fe^{3+}$ )は相手を酸化すると、自分は還元されて $Fe^{2+}$ となる。

9-7. これら二つの半反応のうち、 $NAD^+$ の半反応の還元電位がより大きな負の値なので、その還元型( $NADH$ )が電子供与体となり、もう一方の半反応の酸化型(ピルビン酸)が電子受容体となる(電子2個が移動する)。したがって全体の反応は次のようになる。



このとき、

$$\Delta E^0 = \Delta E^0_{\text{ピルビン酸}} - \Delta E^0_{NADH}$$

$$= -0.19 - (-0.32) = 0.13 \text{ (V)}$$

式(9.12)より、

$$\begin{aligned}\Delta G^{\circ} &= -nF\Delta E^{\circ} \\ &= -(2)(96.48 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(0.13 \text{ V}) \\ &= -25.1 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

## 第 10 章

10-1. グルコースがリン酸化されてグルコース 6-リン酸になると細胞膜を通りにくくなり、せっかくだけ取り込んだグルコースの漏出を防ぐことになる。細胞内でグルコースを効率よく利用できる。

10-2.

(1)ヘキソキナーゼ, ホスホフルクトキナーゼ-1, (2)ホスホグリセリン酸キナーゼ, ピルビン酸キナーゼ, (3) 2 分子, (4)グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ, (5)ヘキソキナーゼ, ホスホフルクトキナーゼ-1, ピルビン酸キナーゼ

10-3. いずれも二個のリン酸基が結合していることを意味しているが, 二リン酸は二個のリン酸基が連続して結合していることを, ビスリン酸は, 二個のリン酸基が当該分子の別の部位に離れて結合していることを表している。

10-4. 図 10.3 を参照。

10-5. 嫌気的条件下で解糖系により ATP を得るには, 酸化剤としての  $\text{NAD}^+$  が絶えず必要となる。しかし細胞内の  $\text{NAD}^+$  の量は限られているので, 還元型  $\text{NADH}$  を乳酸発酵やアルコール発酵の過程で再酸化して  $\text{NAD}^+$  を再生している。

10-6. アルコール代謝の過程 (アルコールデヒドロゲナーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼ) で大量の還元型  $\text{NADH}$  が生成する。これがピルビン酸から乳酸への変換 (乳酸発酵) を促進するからである。

10-7. 核酸合成の原材料となるリボース 5-リン酸の合成と, 脂肪酸やコレステロールなどの還

元的合成に必要な  $\text{NADPH}$  を供給することである。

10-8.  $\text{NADH}$  はそのエネルギーを電子伝達系における酸化的リン酸化で ATP を合成するのに用いられ,  $\text{NADPH}$  のもつエネルギーは脂肪酸やコレステロールの還元的合成に使われる。細胞内では,  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$  比は約 1,000 と酸化型が圧倒的に多く, 基質を酸化的に分解するのに向いている。一方  $[\text{NADP}^+]/[\text{NADPH}]$  比は 0.01 ほどで還元型が多く, 還元的合成に有効である。

10-9. ガラクトース, フルクトース, マンノース

10-10. 代謝物や生体異物の抱合体を形成するのに必要な UDP-グルクロン酸を合成すること。また, 多くのほ乳類においてはアスコルビン酸 (ビタミン C) の合成経路である。

## 第 11 章

11-1. グリコーゲンの直鎖部分はグルコースが ( $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4) で結合しており, 8~12 残基ごとに枝分かれしているがそこは ( $\alpha$  1 $\rightarrow$ 6) 結合でつながっている。1 本の鎖 (枝) の長さは 8~14 残基でそれには 2 本の枝があり, これが繰り返されて巨大な高分子となっている。この構造は, なるべく少ない容積のなかになるべく多くのグルコース分子をコンパクトに詰め込むこと (貯蔵) ができるようになっている。また, グリコーゲンの枝分かれ構造は鎖の端 (非還元末端) が多くできるようになっている。これは, グリコーゲンホスホリラーゼによって分解されていくときには非還元末端からグルコースが 1 分子ずつ切り出されていくが, 緊急時にはより多くのグルコースを動員できることになる。

11-2. 図 11.3 参照。グリコーゲンホスホリラーゼはホモ二量体であり, それぞれのサブユニット

トにはアロステリックエフェクター結合部位がある。活性化因子は AMP であり、阻害因子は ATP とグルコース 6-リン酸である。

AMP が結合すると構造変化を起こし、活性化型 (R 状態) となり、逆に ATP やグルコース 6-リン酸が結合すると不活性化型 (T 状態) となる。

- 11-3. これらのホルモンが細胞膜状の受容体に結合するとアデニル酸シクラーゼが活性化されて ATP から cAMP が合成される。この cAMP がプロテインキナーゼ A を活性化し、それがリン酸化カスケードにより、ホスホリラーゼキナーゼの活性化、ホスホリラーゼの活性化と続き、最終的にはグリコーゲンの分解が促進される。
- 11-4. cAMP とは、環状アデノシン 1-リン酸のことで、リン酸基がリボース部分の 3' と 5' 位で環状に結合している。ホルモンに反応して細胞膜上のアデニル酸シクラーゼにより ATP から合成され、cAMP がその情報を細胞内に伝える。cAMP は代表的なセカンドメッセンジャーの一つである。
- 11-5. 貯蔵されているグリコーゲンを使い果たし、体内にグルコースが不足してきたとき、つまり空腹時である。肝臓 (一部は腎臓)。
- 11-6. 図 11.7 参照。ピルビン酸カルボキシラーゼ, PEP カルボキシキナーゼ, フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ, グルコース-6-ホスファターゼ。
- 11-7. 6 分子相当の ATP を消費する。脳や赤血球はグルコースしかエネルギー源として使えないので、空腹時や飢餓時にはこれほどまでにエネルギーを消費してでも糖新生を行い、これらの臓器にグルコースを供給しなければならない。
- 11-8. ピルビン酸, 乳酸, グリセロール, 糖原性

アミノ酸など。

## 第 12 章

### 12-1. 表 12.1 を参照

チアミンピロリン酸 : 脱炭酸とアルデヒド基転移

リボ酸 : 水素またはアセチル基のキャリア

NADH : 電子伝達体

FADH<sub>2</sub> : 電子伝達体

補酵素 A (CoA) : アセチル基のキャリア

### 12-2. イソクエン酸デヒドロゲナーゼと、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ (複合体)。

### 12-3. スクシニル CoA シンテターゼ。

### 12-4. 図 12.5 を参照。脂肪酸やコレステロール, ポルフィリン, 各種アミノ酸など。

### 12-5. アナプレロティック反応。理由 : クエン酸サイクルの中間体は同化過程の原材料として消費される。もし中間体が枯渇してしまうとクエン酸サイクルが回らず ATP が合成できなくなってしまうので、絶えず中間体を補充する必要がある。

### 12-6. 正しい。理由 : クエン酸サイクルで生成する還元型補酵素のもつ電子は電子伝達系を通過して最終的には O<sub>2</sub> に渡されることになる。もし O<sub>2</sub> が存在しないと電子が流れなくなるので、還元型補酵素が蓄積し、結局クエン酸サイクルは働かなくなる。

### 12-7. 図 12.4 参照。筋肉の収縮によって ATP が消費されると大量の ADP が生成する。この ADP はイソクエン酸デヒドロゲナーゼをアロステリックに活性化する。つまりクエン酸サイクルを活発にして ATP 合成を盛んにする。

## 第 13 章

### 13-1. 複合体 I : NADH—ユビキノンオキシドレ

ダクターゼ複合体と呼ばれ、NADH からの電子をユビキノンに渡す。複合体 I の内部を電子が移動すると共役して、1 個の電子に対して 2 個の  $H^+$  がマトリックス側から膜間腔へくみ出される。

複合体 II：クエン酸回路の一員であるコハク酸デヒドロゲナーゼを成分にもつ複合体で、コハク酸をフマル酸に酸化するときに FAD が  $FADH_2$  に変換され、さらに  $FADH_2$  からの電子をユビキノンに渡す。しかし、複合体 I のように  $H^+$  がくみ出されることはない。

複合体 III：ユビキノール-シトクロム c オキシドレダクターゼと呼ばれ、複合体 I や複合体 II から電子を受け取ったユビキノンから電子を受け取り、シトクロム c に渡す。電子が複合体 III の中を通過する間に、電子 1 個当たり 2 個の  $H^+$  がマトリックスから膜間腔に組み出される。

複合体 IV：シトクロム c オキシダーゼとも呼ばれ、複合体 III から電子を受け取ったシトクロム c から電子を受け取る。複合体 IV は最終的に  $O_2$  に電子を伝達し、これが  $H^+$  と反応して水が生成する。複合体 IV の中を電子が通過する間に、電子 1 個あたり 1 個の  $H^+$  がマトリックスから膜間腔側にくみ出される。

#### 13-2.

- 1) グルコースはミトコンドリアでは代謝できないので、酸素消費は起こらない。
- 2) ATP 合成の原料を添加しても反応させる原動力がないので、反応は進行せず酸素消費も起こらない。
- 3) クエン酸は燃料となり ATP が ADP と  $P_i$  から合成されるようになり、酸素消費が起こる。
- 4) 脱共役によって ATP 合成は低下するが、酸

素消費はそのまま起こる。

- 5) 複合体 IV が阻害され、全電子伝達系が阻害されるので、酸素消費は停止する。

13-3. ATP 合成酵素は  $Mg^{2+}$  の存在下、ADP とリン酸から ATP を合成する。この反応は ATP 合成酵素の  $F_1$  の  $\beta$  サブユニット上で進行するが、この反応にはプロトン勾配によるポテンシャルは必要ない。ポテンシャルが必要となるのは、生成した ATP が酵素から離れるときである。 $\beta$  サブユニットは 3 種類の状態すなわち ATP 結合、ADP 結合、空の状態が存在する。 $F_0$  でのプロトンの流れによって  $\gamma$  サブユニットが回転して、 $\beta$  サブユニットはこの 3 種類の構造をとる。この回転によって  $\beta$  サブユニットに結合していた ATP がマトリックス側に放出されると、ADP を結合している  $\beta$  サブユニット上で ATP が合成される。一方で、空になった  $\beta$  サブユニットには新たな ADP が結合する。この繰り返し反応によって、3 個のプロトンが ATP 合成酵素を流れると 1 分子の ATP が合成される。

13-4. 解糖系によって生成した細胞質の NADH はミトコンドリアの膜内に進入することはできない。そこで、ミトコンドリアの電子伝達系で NADH を利用するために、NADH は特殊なシャトル系を利用して膜内に供給される。肝臓、腎臓および心臓のミトコンドリアにおける NADH シャトルはリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルと呼ばれる。このシャトル系はミトコンドリアマトリックス内に NADH を再生する。一方、骨格筋や脳においては、別のタイプの NADH シャトルが存在する。それはグリセロール 3-リン酸シャトルと呼ばれる。この場合は、NADH はマトリックス内では  $FADH_2$  に変換される。解糖系からできるグルコース 1 分子あたりの

NADH は 2 分子である。一方、酸化リン酸化の過程で、1 分子の NADH からは 2.5 個の ATP、1 分子の FADH<sub>2</sub>からは 1.5 個の ATP ができると考えると、どちらのシャトルを利用したかによって、できる ATP の数が 5 個と 3 個となり、2 個の差が出ることになる。

13-5. 2,4-ジニトロフェノールの様な脱共役剤と X を同時にミトコンドリアに加えて、酸素消費量を測定すればよい。X が電子伝達系を阻害している場合は、酸素消費が低下する。ATP 合成酵素を阻害している場合は、酸素消費は阻害されない。

13-6. 酸化リン酸化過程において、ATP を合成しないでプロトンマトリックス内に流入させることを脱共役という。プロトンマトリックス内に流入させることで、熱エネルギーに変えている。これは、ほ乳類が体温を維持する手段として利用している。しかし、このタンパク質の仲間には植物にも見いだされており、哺乳動物に限った機構ではない。

13-7. ミトコンドリアの電子伝達系で NADH を利用するために、NADH は特殊なシャトル系を利用して膜内に供給される。肝臓、腎臓および心臓のミトコンドリアにおける NADH シャトルはリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルと呼ばれる。骨格筋や脳においては、別のタイプの NADH シャトルが存在し、グリセロール 3-リン酸シャトルと呼ばれる。それぞれリンゴ酸やグリセロール 3-リン酸を媒介として NADH を利用して、ミトコンドリアの内膜の内と外で酸化還元することで、NADH は膜を通過させずに内膜内で再生する。

## 第 14 章

14-1. 葉緑体は独自の DNA やリボソームをもって

おり、自己複製することができる。また光合成装置なども光合成細菌とよく似ている。

14-2. クロロフィル a, クロロフィル b, β-カロテン

クロロフィル a とクロロフィル b は、ピロール環 4 つからなるクロリン環と疎水性のフィトール部分からなるよく似た構造をしており、クロリン環には Mg 原子が配位している。これらの色素は 400~500nm の青い光と 650~700nm の赤い光をよく吸収する。β-カロテンはカロテノイドの一種で補助色素として働いている。β-カロテンは 400~550nm の青から緑色の光をよく吸収するが 550nm 以上の光（黄、橙、赤）は反射するので、これが多い植物（ニンジン、オレンジ、秋の紅葉など）は特有の色をつくり出している。

14-3. H<sub>2</sub>O

14-4. 光のエネルギーが吸収されると P680 という特別なクロロフィル分子のペアがもっている電子が励起されて放出される。その結果 P680 は正の電荷をもつことになり (P680<sup>+</sup>)、これが H<sub>2</sub>O 分子から電子を引き抜く強力な酸化剤である。

14-5. 光合成の役割の一つは NADP<sup>+</sup>を還元して NADPH を生成することである。それを確実にするために NADP<sup>+</sup>の酸化還元電位 (-0.32V) よりもさらに大きな負の値をもつ還元剤が必要となる。

14-6. いずれも電子伝達の過程で生じたプロトン濃度勾配をおもなエネルギー源にして ATP を合成している。両方の ATP 合成酵素は構造的にもよく似ており、同じ分子から進化してきたと考えられている。

14-7. 暗反応の初期の過程で、CO<sub>2</sub> を固定する反応と還元過程において利用される（カルビン

サイクル, 図 14.5 参照).

- 14-8. グリセルアルデヒド 3-リン酸
- 14-9. 気温が高くて光合成反応が盛んになると, 細胞内の  $\text{CO}_2$  濃度は低くなり,  $\text{O}_2$  濃度は高くなる. 光呼吸とは, その  $\text{O}_2$  を使い, また ATP と NADPH を消費して  $\text{CO}_2$  を放出する過程である. 明反応で合成した ATP と NADPH を浪費することになるが, 高濃度の  $\text{O}_2$  は細胞に傷害を引き起こす可能性がある. ため, それを防ぐために光呼吸の過程が働いていると考えられている.
- 14-10. サボテンなどの熱帯の多肉性植物では, 夜の間  $\text{CO}_2$  を取り込んでリンゴ酸を合成する. 日中の暑いときには気孔を閉じて, リンゴ酸を酸化的に脱炭酸して  $\text{CO}_2$  を生成し, それをカルビンサイクルに供給している (CAM 植物).

## 第 15 章

- 15-1. ヒト血液中のリポタンパク質は, キロミクロン, 超低密度リポタンパク質 (VLDL), 中間密度リポタンパク質 (IDL), 低密度リポタンパク質 (LDL) および高密度リポタンパク質 (HDL) の大きく 5 種類に分類される.

キロミクロンは小腸で消化吸収された大量のトリアシルグリセロールとアポ B-48 を含んでいる. キロミクロンのトリアシルグリセロールは脂肪組織などの毛細血管の内壁に存在するリポタンパク質リパーゼによって脂肪酸とグリセロールに分解されて, これらの組織に吸収される.

VLDL は主に肝臓で合成されたトリアシルグリセロールやコレステロールとアポ B-100 を含んでいる. VLDL のトリアシルグリセロールも脂肪組織などの毛細血管のリ

ポタンパク質リパーゼによって分解されて遊離され, VLDL は IDL, LDL に変化する.

LDL は, コレステロールとコレステロールエステルに富むリポタンパク質であり, 末梢組織の細胞に LDL 受容体を介したエンドサイトーシスにより取り込まれ, 末梢組織にコレステロールを運搬する.

HDL は肝臓で未成熟 HDL として生成されて, 末梢組織の細胞からコレステロールを取り込む働きをする. HDL はコレステロールエステルをキロミクロン, VLDL, IDL, LDL に移すと共に肝臓にも転移し, 結果的に末梢組織のコレステロールを肝臓に運搬する.

- 15-2. 炭素鎖 18 の飽和脂肪酸であるステアリン酸は 8 回の  $\beta$  酸化を受け, 9 分子のアセチル CoA に分解されて, ミトコンドリアのマトリックスのクエン酸回路で酸化される.

$$9 \text{ アセチル CoA} \times 10 = 90 \text{ ATP}$$

$$8 \text{ FADH}_2 \times 1.5 = 12 \text{ ATP}$$

$$8 \text{ NADH} \times 2.5 = 20 \text{ ATP}$$

$$\text{合計 } 122 \text{ ATP}$$

ただし, ステアリン酸はステアリン CoA へ活性化されるため, ATP が AMP と  $\text{PPi}$  に加水分解される. そのため,

$$122 \text{ ATP} - 2 \text{ ATP} = 120 \text{ ATP} \text{ が産生される.}$$

- 15-3. 肝臓のペルオキシソームにおいて, ミトコンドリアで酸化できない分枝脂肪酸や超長鎖脂肪酸は  $\beta$  酸化を受ける. ペルオキシソームでの  $\beta$  酸化の第一段階はアシル CoA オキシダーゼによって触媒されて, 分子状  $\text{O}_2$  から  $\text{H}_2\text{O}_2$  を生じる.

- 15-4. 飢餓によるグルコースの供給不足や糖尿病のようにグルコースの利用低下によってグルコースを十分利用できない状況下では, 肝臓のミトコンドリアにおいて脂肪酸の  $\beta$  酸化によって産生されたアセチル CoA が

らケトン体が生成される。アセト酢酸, 3-ヒドロキシ酪酸にアセトンを加えた三者をケトン体と呼ぶが, アセト酢酸, 3-ヒドロキシ酪酸が肝臓以外の組織のエネルギー源として利用される。

15-5. アセチル CoA はミトコンドリアマトリックスにおいてピルビン酸からピルビン酸デヒドロゲナーゼによって生成されるが, ミトコンドリア内膜を通過できないため, いったんクエン酸に変換されたのちトリカルボン酸輸送系によって細胞質に輸送される。クエン酸は細胞質で ATP-クエン酸リアーゼによって解裂されてアセチル CoA とオキサロ酢酸を生成する。

15-6. 動物の脂肪酸シンターゼは七種類の酵素とアシルキャリアタンパク質 (ACP) を含む一本のポリペプチドの多機能酵素の二量体であり, 脂肪酸合成の一連の反応を触媒する。脂肪酸の合成は, (1)アセチル (アシル) 基とマロニル基の二種類のチオエステル誘導体がオキソアシル-ACP シンターゼと ACP のホスホパンテテイン基のチオール基に形成され, (2)この前駆体の縮合がおこり, (3)還元・脱水・還元反応によりアシル基が生成され, (4)生じたアシル基が転移を受ける。(2)~(4)の反応が繰り返されて, アシル基は炭素数 2 個ずつ延長されて, 炭素数 16 のパルミトイル-ACP が生成されると, パルミトイルチオエステラーゼによってパルミチン酸が遊離される。

15-7. ミトコンドリアマトリックスから細胞質に輸送されたクエン酸は細胞質で ATP-クエン酸リアーゼによってアセチル CoA とオキサロ酢酸に解裂される。アセチル CoA は脂肪酸合成に利用されるが, オキサロ酢酸はリンゴ酸に変換され, さらにリンゴ酸酵素によっ

て酸化的に脱炭酸されてピルビン酸に変換される。リンゴ酸酵素によって生成された NADPH は脂肪酸合成に用いられる。さらに, 脂肪酸合成に必要な NADPH はペントースリン酸経路によって供給される。

15-8. グリセロール 3-リン酸に 2 分子の脂肪酸が 2 種類のアシル CoA トランスフェラーゼによって結合されて, ホスファチジン酸が生成される。ホスファチジン酸はホスファチジン酸ホスファターゼによって脱リン酸化されて 1, 2-ジアシルグリセロールに変換される。ここまでの経路はトリアシルグリセロールとグリセロリン脂質の合成に共通である。さらに, ジアシルグリセロールの 3 位がアシル化されてトリアシルグリセロールが生成される。一方, グリセロリン脂質では 1, 2-ジアシルグリセロールにホスホコリンやホスホエタノールアミンが結合してホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンが合成される。

15-9. シクロオキシゲナーゼ (COX) には二種類のアイソザイムがあり, COX-1 は構成的に発現し生理的な PG の合成に関与するが, COX-2 は細胞障害部位で誘導されて炎症と痛みに関与する PG の生成に関与する。非ステロイド性抗炎症薬であるアスピリンやインドメサシンは COX-1 と COX-2 を阻害するが, このような選択性の低い COX 阻害剤は生理的な PG の合成に関与する COX-1 阻害による副作用をもつ。一方, セレコキシブなどの COX-2 の選択的阻害剤は COX-1 阻害の副作用を起こさずに抗炎症作用を発揮する。

15-10. コレステロール合成の調節は主に HMG-CoA レダクターゼの段階でおこるが, HMG-CoA レダクターゼの細胞内量は高濃

度のコレステロールによって長期的な転写レベルのフィードバック制御を受ける。さらに、HMG-CoA レダクターゼは細胞 ATP 量を増加させるように働く AMP 依存性プロテインキナーゼによってリン酸化されて不活性化される。ロバスタチン、プラバスタチン、シンバスタチンなどのスタチン類は、HMG-CoA レダクターゼの強力な拮抗阻害剤であり、高脂血症を改善してアテローム性動脈硬化の進行を抑制する。

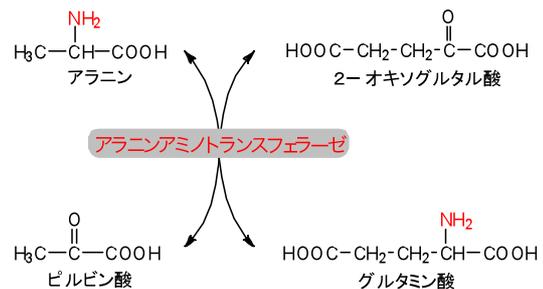
15-11. コール酸やケノデオキシコール酸などの胆汁酸は肝臓でコレステロールから合成される。コール酸やケノデオキシコール酸はさらにタウリンやグリシンを抱合して水溶性を増し、一次胆汁酸として肝臓から分泌される。分泌された胆汁酸は腸内細菌によって脱抱合と脱ヒドロキシル化を受けて、二次胆汁酸とよばれるデオキシコール酸やリトコール酸に変換される。一次胆汁酸と二次胆汁酸はほとんど小腸から再吸収されて、肝臓に戻り再利用される。

15-12. グリセロリン脂質はコリン、エタノールアミン、セリン、イノシトール、ジアシルグリセロールなどの極性基をもつ。ホスファチジルイノシトールは負電荷をもつホスファチジ酸に荷電をもたないイノシトールが結合したリン脂質であり、全体として負に荷電している。そのため酸性リン脂質と呼ばれる。一方、ホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンは、ホスファチジ酸に正電荷をもつコリンやエタノールアミンが結合し、全体として電荷が相殺されるため、中性リン脂質と呼ばれる。

## 第 16 章

16-1. 真核細胞の細胞内タンパク質は二つの主要な経路によって分解される。細胞外タンパク質や寿命が長いタンパク質は、リソソームに取り込まれて ATP 非依存的にアミノ酸まで分解される。一方、寿命が短いタンパク質や異常タンパク質は ATP 依存的に分解される。この過程にはユビキチンとよばれるすべての真核細胞に普遍的に存在する小さなタンパク質が関与しており、分解対象となるタンパク質はリシン残基が ATP 依存的にユビキチンで標識された後、プロテアソームとよばれるタンパク質複合体によって ATP 依存的に加水分解される (図 16.1 参照)。

16-2.



16-3.  $\text{NH}_3 + \text{HCO}_3^- + \text{アスパラギン酸} + \text{ATP} \rightarrow \text{尿素} + \text{フマル酸} + 2\text{ADP} + 2\text{P}_i + \text{AMP} + \text{PP}_i$

16-4. 直接関与している  $\alpha$ -アミノ酸は、オルニチン、シトルリン、アスパラギン酸、アルギニン、コハク酸、アルギニンの五種類であり、それらのうち、タンパク質合成に使われるものはアスパラギン酸とアルギニンの二種類である。

16-5. 大部分のアミノ酸は肝臓において脱アミノ化されるが、一部は筋肉でも脱アミノ化される。しかしながら、肝臓以外の臓器には尿素回路が存在しないため、筋肉では解糖によって生じたピルビン酸にアミノ酸の  $\alpha$ -アミノ

基が転移することによりアラニンを生成する。このアラニンは血液中を通して肝臓に運ばれ、そこで脱アミノ化反応によりピルビン酸に戻るとともに、アミノ基は尿素合成へと向う。得られたピルビン酸は糖新生によりグルコースに変換されて再び筋肉に戻り、エネルギー源として利用される。このような筋肉と肝臓間のグルコースとアラニンの交換は、筋肉が窒素を排出し、エネルギーを補填する重要な方法となっており、グルコース-アラニン回路とよばれている。

- 16-6. アミノ酸の炭素骨格はクエン酸回路の中間体もしくはその前駆体を経て代謝される。これらのうち、ピルビン酸やクエン酸回路の中間体に分解されるアミノ酸は、脱アミノ化を受けた後の炭素骨格部分が糖新生経路に供給されグルコースに転換されうするため、糖原性アミノ酸とよばれている。一方、ピルビン酸あるいはクエン酸回路を経ることなくアセチル CoA やアセトアセチル CoA に変換されるアミノ酸は、脂質代謝経路を経由して脂肪酸やケトン体合成に導かれるためケトン性アミノ酸とよばれる。また、いくつかのアミノ酸は、グルコースおよびケトン体合成に導かれるため糖原性・ケトン性アミノ酸とよばれる。

ロイシンは唯一のケトン性アミノ酸であり、芳香族アミノ酸とリシン、イソロイシンは糖原性・ケトン性アミノ酸である。残りの 15 のアミノ酸は糖原性アミノ酸である

- 16-7. 酵素：アミノ酸デカルボキシラーゼ，補酵素：ピリドキサルリン酸
- 16-8. フェニルアラニンヒドロキシダーゼ  
→ フェニルケトン尿症  
ホモゲンチジン酸ジオキシゲナーゼ  
→ アルカプトン尿症

- 16-9. (a)グリシン・アルギニン・メチオニン，(b)グリシン，(c)アルギニン，(d)チロシン

## 第 17 章

- 17-1. グルコースからピルビン酸までの解糖系は  $O_2$  のない嫌気的条件でも起こる過程であり、途中で基質レベルのリン酸化によって ATP が合成される。しかし脂肪酸やアミノ酸が分解されてくる過程では基質レベルのリン酸化のステップがない。脂肪酸やアミノ酸は代謝されてアセチル CoA やクエン酸サイクル中間体となるが、そこから先は  $O_2$  がないと進行しない。

- 17-2. 脳ではグルコースをグリコーゲンとして蓄えておくことができず、また平常時はグルコースのみをエネルギー源としているので、血液から絶えずグルコースを供給する必要がある。神経細胞の静止膜電位を維持するために働いている  $Na^+/K^+$ -ATP アーゼが大量に ATP を消費する。

- 17-3. まず、筋肉においてピルビン酸から乳酸に変換するのは、解糖に必要な  $NAD^+$  を再生するためである。また、筋肉には糖新生系の酵素をもたないので、乳酸を一度肝臓まで運びそこでふたたびピルビン酸に戻し、糖新生系によってグルコースを合成する。

- 17-4. インスリンが過剰になると血糖値が下がりすぎることになり、ひどいときには昏睡状態となり、生命に危険がおよぶこともある。

- 17-5. 飢餓状態が続くような場合には、体内では脂肪をおもなエネルギー源とするようになる。脂肪だけではクエン酸サイクルの中間体が補充できないので、しだいにアセチル CoA が蓄積し、ケトン体が増えてくる。そのようなときに糖分が少しでもあるとクエン酸サイクルの中間体が補充され、脂肪をうまく燃

焼させることができる (12.5.2 参照).

- 17-6. グルカゴンは肝細胞では cAMP の生産を介して解糖系のホスホフルクトキナーゼ 1 を阻害し, 糖新生系のフルクトース-1,6-ビスホスファターゼを活性化する. つまりグルコースの消費を抑え, 合成を促進する. その結果グルコース濃度を維持することになる (10.4 参照).
- 17-7. 生物の進化の過程で血糖値の上昇 (摂食) というのは頻繁に起こることではなく, それに対応する (つまり血糖値を低下させる) ホルモンも 1 種類でよく, 逆に飢餓状態でも血糖値を維持するためには, いくつかのホルモンが必要だったのではないかと考えられている.

## 第 18 章

- 18-1. パラクリン型と接触型は, 情報発信細胞の周辺に存在する標的細胞にのみ作用する局所的なシグナル伝達である. パラクリン型は, 情報発信細胞から細胞外液に放出されたシグナル分子が近傍に存在する標的細胞に働きかける. 一方, 接触型はシグナル分子を分泌せずに, 情報発信細胞表面に存在する膜内在性タンパク質を介して, 隣接した標的細胞に働きかける.
- 18-2. G タンパク質連結型受容体は, 膜を 7 回貫通する領域をもち, シグナル分子と結合する N 末端は細胞膜の外側に, G タンパク質が結合する C 末端は細胞質側に位置している. G タンパク質は  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  の三つのサブユニットからなり, 不活性化状態では GDP が  $\alpha$  サブユニットに結合している. シグナル分子が受容体に結合すると, G タンパク質の  $\alpha$  サブユニットの構造が変化し, GDP の親和性が低下して解離すると同時に, GTP が結合して

活性化となる. その結果,  $\alpha$  サブユニットは, 受容体, および,  $\beta \gamma$  複合体から解離する. 活性化された  $\alpha$  サブユニットは, 標的タンパク質に直接作用してシグナルをさらに先へ伝えてゆく.

- 18-3. セカンドメッセンジャーには, cAMP, cGMP, ジアシルグリセロール(DGA), イノシトール 1,4,5-トリスリン酸(IP<sub>3</sub>), カルシウムイオン (Ca<sup>2+</sup>) などがある. シグナル分子が G タンパク質連結型受容体に結合すると G タンパク質の種類によって, 異なるセカンドメッセンジャーが産生される. 例えば, アドレナリン  $\beta$  受容体に結合する G<sub>s</sub> タンパク質は, アデニル酸シターゼを活性化して cAMP を産生する. この cAMP は, おもにプロテインキナーゼ A の酵素を活性化し, 遺伝子発現制御などさまざまな効果をひき起こす.
- 18-4. 受容体チロシンキナーゼにシグナル分子が結合すると, 受容体は二量体を形成し, その細胞質側に存在するキナーゼドメインを介して互いの受容体のチロシン残基をリン酸化する. リン酸化された受容体は, アダプタータンパク質, さらに Ras を活性化するタンパク質を引きよせて Ras を活性化する. その結果, 下流にある MAP キナーゼキナーゼキナーゼ(MAPKKK)を始まりとしたキナーゼの連鎖反応が起こる. MAPKKK が活性化されると MAPKK をリン酸化して活性化し, この MAPKK が MAP キナーゼのセリンとトレオニン残基をリン酸化して活性化する. 活性化型 MAP キナーゼは, 転写因子をリン酸化し, 細胞増殖等に関連した遺伝子発現を導く.
- 18-5. 細胞外ドメインが一部欠損した受容体は, シグナル分子が結合できず, シグナル伝達が正しく行われないと考えられる. ただし, ある場合には構造変化によって構成的に活性

化し、シグナルを過剰に伝えることもある。一方、細胞内部にあるリン酸化を受けるチロシン残基がアラニン残基に置換した受容体は、シグナル分子は結合するが、受容体のリン酸化が正しく起こらないためにアダプタータンパク質が結合できず、やはりシグナル伝達が正しく行われない。

- 18-6. サイトカインや TGF- $\beta$  の受容体が知られている。サイトカインが受容体に結合すると、受容体に結合した JAK が互いをリン酸化して活性化する。活性化した JAK は、受容体チロシン残基をリン酸化して活性化し、それが遺伝子を調節するタンパク質（転写因子）STAT を呼び込んでリン酸化する。リン酸化された STAT は、受容体から離れ、核に移動して標的遺伝子の転写を制御する。
- 18-7. 神経伝達物質であるアセチルコリンが心筋細胞の G タンパク質連結型受容体に結合すると、Gi タンパク質が活性化し、活性型の  $\alpha$  サブユニットと活性型の  $\beta \gamma$  サブユニットに解離する。 $\beta \gamma$  サブユニットは  $K^+$ チャネルに結合し、 $K^+$ チャネルを開口させることで心筋細胞の脱分極を起し電気活動を抑制する。

## 第 19 章

- 19-1. プリン塩基を構成する原子はグルタミン、アスパラギン酸、グリシン、10-ホルミルテトラヒドロ葉酸および  $CO_2$  に由来する。ピリミジン骨格はアスパラギン酸、グルタミンおよび  $HCO_3^-$  に由来する。
- 19-2. 細胞内で核酸の分解によって生じた塩基やヌクレオシドがヌクレオチドに再利用される経路をサルベージ経路というが、この反応に必要なエネルギーはデノボ合成に比べはるかに少なく経済的である。肝臓はプリンヌ

クレオチドのデノボ合成の主要な臓器であり、血液中にプリンを放出する。血液中のプリンはデノボ合成能をもたない細胞に取り込まれてサルベージ経路により再利用される。

- 19-3. 抗がん剤 5-フルオロウラシルはチミジル酸シンターゼを不可逆的に阻害する。メトトレキサート、アミノプテリンなどの抗葉酸剤はジヒドロ葉酸レダクターゼを競合的に阻害してチミジル酸の合成を阻害する。
- 19-4. ヒトではプリンヌクレオチドの分解の最終代謝物は尿酸であり、尿中に排泄される。尿酸は比較的水に難溶性である。尿酸の生成亢進や腎からの排泄低下によって体内に尿酸が蓄積すると痛風が発症する。痛風結節や腎臓や尿管に尿酸結石が出現して腎障害などの症状を引き起こす。
- 19-5. アデノシンはアデノシンデアミナーゼによってイノシンに変換された後ヒポキサンチンに変換されて尿酸にまで代謝されるが、アデノシンデアミナーゼの欠損によりアデノシンやデオキシアデノシンが分解されず濃度が上昇するため、デオキシアデノシンのリン酸化活性が強いリンパ球において dATP 濃度が上昇し、リボヌクレオシド二リン酸レダクターゼが阻害されてデオキシヌクレオチドの生成が低下して、DNA 合成が抑制される。そのため、Tリンパ球とBリンパ球の減少と機能異常に由来する複合型の強い免疫不全を発症する。
- 19-6. レシュ・ナイハン症候群はプリンの過剰産生による高尿酸血症と精神遅滞、自傷行為など特徴的な症候をともなう先天性代謝異常疾患である。プリンのサルベージ経路の酵素である HGPRT の欠損がみられる。脳はデノボ合成の活性が低いいためサルベージ経路の



正能をもった DNA ポリメラーゼ  $\delta$  によって埋められる。また、複製時に誤ったヌクレオチドが挿入された場合でも、DNA のミスマッチ修復によって修復される。

- 20-5. 線状二本鎖 DNA の複製において、DNA ポリメラーゼは娘鎖の 5'末端につくられた RNA プライマーを DNA に置き換えることができない。このため、複製ごとに DNA 鎖が短くなってしまふ。一方、大腸菌などの環状二本鎖 DNA の複製ではこのような問題は生じない。
- 20-6. 紫外線により DNA は損傷を受けやすく、容易に隣りあうピリミジン塩基同士が反応してピリミジンダイマーが形成される。多くの原核細胞や真核細胞に存在するフォトリアーゼは可視光線を吸収してピリミジンダイマーを可逆的に修復する。しかし、フォトリアーゼはヒトには存在しないので、ヌクレオチド除去修復によって修復される。
- 20-7. ミスマッチ修復において、いずれの鎖が正しい親 DNA であるかを区別する必要がある。大腸菌においては親 DNA 中の CATC 配列のアデニンがメチル化されているが、新生 DNA 鎖はメチル化されていない。これを指標として間違った塩基をもつ DNA 鎖を見つけ出し、メチル化されている親 DNA を鋳型として修復する。ヒトにおいてもミスマッチ修復は同様におこるが、もっと複雑な機構による。
- 20-8. 相同組換えは真核生物で見られる減数分裂において半数体である精子と卵子、植物では配偶子が形成される段階でみられるが、染色体断片同士が交換反応を受けるため個体の遺伝的多様性が生じる。さらに二倍体の生物では遺伝子組換えにより染色体上の遺伝子が混ぜ合わされるので、非常に多様な子孫が

生まれる。これらは生物進化に貢献してきたと考えられる。

## 第 21 章

- 21-1. 大腸菌の RNA ポリメラーゼのコア酵素は 4 量体でできており、そのうちの  $\beta$ 'サブユニットが DNA を認識して結合できる。しかし、その結合は弱く、シグマ因子が結合したホロ酵素となることで転写する DNA に安定に結合できる。真核生物では、転写開始部位のコアプロモーターは、基本転写因子群が認識して結合する。RNA ポリメラーゼ II はその複合体との相互作用によって呼び込まれるが、直接 DNA を認識しない。
- 21-2. mRNA の細胞での発現量は、その合成と分解とのバランスできまる。その合成を阻害するために、細胞を  $\alpha$ -アマンチンで処理して RNA ポリメラーゼ II を不活化したうえで、時間を追って mRNA の量をノーザンブロット法など用いて調べる。mRNA の量が急速に減少していれば mRNA 分解は早く不安定であり、減少が緩やかであれば安定である。
- 21-3. ミトコンドリア RNA ポリメラーゼは、核内 DNA にコードされている。2つのサブユニットからなり、そのうちの 1つは大腸菌のシグマ因子に類似している。もう一つは、バクテリオファージの RNA ポリメラーゼと類似する。RNA ポリメラーゼと異なり  $\alpha$ -アマンチンに耐性である。

- 21-4. スプライソソームは、RNA スプライシングを実行するタンパク質と核内低分子 RNA (snRNA) の複合体である。その中で、U1 snRNA と 5'スプライス部位、そして U2 snRNA と分岐点 A 周辺部位が塩基対を形成することでスプライシングが始まる。つまり、少なくとも snRNA との塩基対の形成がスプ

ライシングの位置を決めているといえる。

- 21-5. ともに代謝産物の結合によって DNA への結合の制御をうけている。lac レプレッサーは、プロモーターに存在するオペレーターに結合することで、RNA ポリメラーゼの結合を抑制する。一方、アクチベーターCRP が結合する CRP 結合部位はプロモーター近傍に存在し、RNA ポリメラーゼのプロモーターへの結合を安定化する。このモデルでは、レプレッサーとアクチベーターは RNA ポリメラーゼの DNA 結合を調節することで転写を制御している。
- 21-6. DNA のシトシンがメチル化をうけることで、その領域のクロマチン凝集が導かれ転写が抑制される。メチル化をうけるシトシンはシトシン、グアニンと並んだ配列のシトシンに限定され、この配列を CpG 配列とよぶ。CpG 配列はゲノム中に不均一に分布するが、特に遺伝子のプロモーターの転写開始点から少し上流に CpG に富んだ領域が存在する。この領域のメチル化と脱メチル化によってプロモーター領域のクロマチン状態が変化し、その結果、転写が制御される。
- 21-7. ヒストンのどの位置にあるリシン、アルギニンがアセチル化をうけても、そのヒストンからなるクロマチンは弛緩する。それに対して、ヒストンのメチル化は、その修飾をうける部位によってクロマチンを凝集したり弛緩したりする。
- 21-8. 熱ショック応答として知られている細胞の応答についての問題である。ある刺激によって誘導されることから、全ての遺伝子のプロモーターには共通の応答配列が存在すると推測される。温熱ストレスの場合は、nGAAAnnTTCnnGAAAn など、nGAAAn の逆向きくり返し配列があることが想定できる。そ

れらの遺伝子が存在する位置関係はなく、ゲノム上にランダムにコードされている。原核生物では、同じ代謝に関わる遺伝子群が同じオペロンに存在して同じ発現制御をうけるのと対照的である。

## 第 22 章

### 22-1 (2010.07.20 訂正しました)

5'-GAATGTCGGCCGCGAT-3'

3'-CTTACAGCCGCGCTA-3'

Met Ser Ala Ala

- 22-2. 遺伝暗号は縮重していて、3文字目の変異ではコードするアミノ酸はほとんど変わらない。また、1文字目の変異しても、例えば GUU (Val) が AUU (Ile) になっても、CUU (Leu) になっても、性質の類似したアミノ酸に変わるだけなので、タンパク質全体の構造はあまり影響を受けないと考えられる。つまり、遺伝暗号の変異に対する防御機構の一つとしてコドンは進化してきたと言える。
- 22-3. 真核生物では、転写は核内でおこり、転写された mRNA は細胞質へ運ばれ、そこで翻訳されるため、転写と翻訳は共役しない。
- 22-4. もし、A 部位の tRNA とリボソームの親和性が高ければ、コドンを読み違えたときに校正する機会が少なくなり、正しいアミノ酸配列を維持できない。
- 22-5. タンパク質 A は、20,000 個 (2,300,00/115=20,000) のアミノ酸からできている。したがって約 167 分 (20,000/2/60=166.7) かかる。
- 22-6. トリプシンなどのタンパク質消化酵素はプレタンパク質として合成され、消化管の中で切断されて活性化される。はじめから活性型で合成されると、細胞内のタンパク質も消化されてしまう可能性がある。このように、そ

のタンパク質が機能する場所に移行して初めて活性化されるように調節されている。

22-7. 表 22.2 にまとめてあるように、リボソームの構造、SD 配列の有無、開始 tRNA が異なること、開始因子、伸長因子、終結因子、ヌクレオチド要求性が異なることがあげられる。

22-8.

(a)シグナルペプチドとは、タンパク質の局在化を決めるアミノ酸配列。

(b)分子シャペロンとは、タンパク質の正しい折りたたみと局在化を助ける分子である。

(c)コドンとは、mRNA 上の 3 つの並びの塩基で、特異的なアミノ酸を指令したり、翻訳の開始や終結を指令する。

(d)プロテアソームとは、ユビキチンによって標識されたタンパク質を分解する大きな分子複合体である。

(e)ジスルフィド結合とは、タンパク質構成するシステイン残基同士の間形成される共有結合であり、分子内と、分子間の結合がある。

(f)転移 (トランスロケーション) とは、ペプチジル- tRNA が A 部位から P 部位へ移動すること。

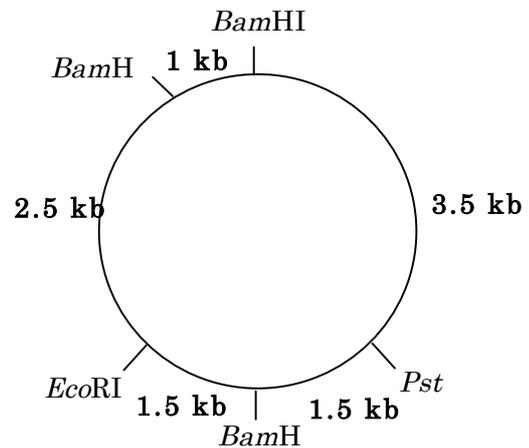
## 第 23 章

23-1. DNA 連結反応を触媒する DNA リガーゼ。

2 つの DNA 断片の隣接した 3' ヒドロキシ基と 5' リン酸基が共有結合により連結される。

23-2. *EcoRI* は 1 ヲ所、*BamHI* は 2 ヲ所、*PstI* は 1 ヲ所の切断部位がある。さらに、*BamHI* と *EcoRI+BamHI* の制限酵素処理から 4.0 kb *BamHI* DNA 断片中に *EcoRI* の切断部位がある。同様に、*PstI+BamHI* 制限酵素処理から、5.0 kb *BamHI* DNA 断片中に *PstI* の制

限酵素がある。*EcoRI+PstI* 制限酵素処理で見られる 3 kb の DNA 断片は、*EcoRI+BamHI* と *PstI+BamHI* の各 1.5 kb をたした DNA 断片である。以上をまとめると図のようになる。

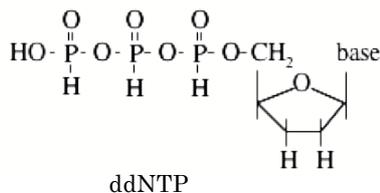
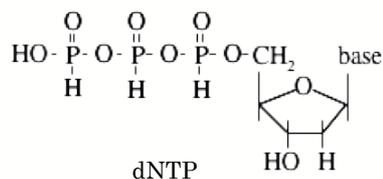


23-3. 哺乳動物細胞にプラスミドベクターを導入するために三つの方法が利用されている。第一は、リン酸カルシウム法である。リン酸カルシウムと DNA が凝集して細胞表面に共沈したものを細胞に取り込ませることで DNA を導入できる。第二は、水溶液中にリン脂質を加えるとできる脂質の小胞 (リボソーム) を利用するリボソーム法である。リボソームは細胞膜と融合する性質を持つので、あらかじめその中に DNA を取り込ませることで細胞へ導入する。第三は、DNA 溶液中に細胞を浸して電気刺激をあたえる電気穿孔 (エレクトロポレーション) 法である。この操作により、細胞膜の性質が一時的に変化して DNA が導入される。このように、組換え DNA を培養細胞中に導入することをトランスフェクション (transfection), そして導入された遺伝子をトランスジェン (transgene) とよぶ。

23-4. 胚性幹細胞 (ES 細胞)。その細胞のゲノム由来のマウス個体を作成でき、相同組換えが

比較的高頻度で起こる性質を利用している。

- 23-5. PCR 法は、三つの反応（熱変性、アニーリング、DNA 合成）からなるサイクルを繰り返すことで行われている。1. 熱変性は、94°C に加熱することで二本鎖 DNA を一本鎖 DNA に変性させる。2. アニーリングは、約 50~60°C に下げることで、目的とする遺伝子に相補的に結合する二つのプライマーが鋳型 DNA とハイブリットを形成させる。3. DNA 合成は、熱安定性ポリメラーゼによって高温で新たな DNA 鎖を合成させる。
- 23-6. ゲノムライブラリーの出発材料はゲノム DNA で、制限酵素で断片化を行いベクターに導入することで構築する。このライブラリーは、エキソン、イントロンを含む。一方、cDNA ライブラリーは、出発材料は mRNA である。逆転写酵素によって相補的な DNA を合成し、ベクターにクローニングする。イントロンは含まないのでタンパク質の高発現などに利用できる。
- 23-7. ddNTP は、dNTP と違い 3' OH 基がない。そのため、塩基と塩基を繋げるホスホジエステル結合を形成できず、DNA 合成で ddNTP が取り込まれると伸長反応が途中で停止する。



- 23-8. トランスジェニックマウスの作製には、多

数のマウス受精卵を必要とする。そのため、一般的に雌マウスにホルモン剤を投与して過剰排卵誘発を起こさせ、雄と交配させる。翌朝に交配した雌マウスより、マウス受精卵の採取を行い、その後マイクロインジェクション法を用いて、外来遺伝子をマウス受精卵の前核内に顕微鏡観察下でマイクロインジェクションピペットを用いて注入する。マイクロインジェクション後に生き残ったマウス受精卵を、偽妊娠母マウスの卵管に移植する。生まれてきたマウスがトランスジェニックマウスである。このマウスが外来遺伝子を受け継いでいるかの判断は、PCR法、サザンプロット法、導入遺伝子の発現を解析して明らかにする。

- 23-9. サザンプロット法は、電気泳動によって分画した DNA を、標識した DNA プローブと DNA-DNA ハイブリット形成を起こさせ特定の DNA 配列を検出する手法である。一方、ノーザンプロット法は、電気泳動によって分画した RNA を、標識した DNA プローブと DNA-RNA ハイブリット形成を起こさせ特定の RNA 配列を検出する手法である。

健常者と患者さんから抽出したゲノム DNA を制限酵素処理し、電気泳動してサザンプロット法を行う。プローブとして健常者と同じ配列の DNA を用いた場合、健常者ゲノムは安定な DNA-DNA ハイブリットを形成する。一方、患者ゲノムは変異があるために、不安定な DNA-DNA ハイブリットを形成する。ハイブリッド形成の違いを検出することで遺伝子変異の有無を知ることができる。

## 第 24 章

- 24-1. ショウジョウバエや両生類の受精卵の卵割

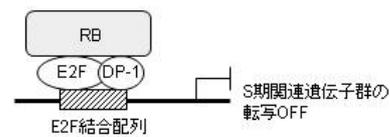
は細胞周期の G<sub>1</sub> 期も G<sub>2</sub> 期もなく、細胞はすみやかに分裂してゆき、その間は受精卵から受け継がれたゲノムからの転写はない。つまり、卵割は母性遺伝子産物によって調節されている。一方、ほ乳類の受精卵はわずか2細胞期から遺伝子発現がみられ、受精卵ゲノムによって卵割が調節される。細胞周期には G<sub>1</sub> 期と G<sub>2</sub> 期が含まれ、卵割はゆっくり進む。

24-2. 操作を加えた細胞を、8細胞期前後の未処理のマウス初期胚に注入して、胚ごと仮親へ戻す。生まれてきた仔の生殖細胞の一部がその細胞由来であることを確認する。そのためには、再び処理をしていないマウスと交配させて、生まれてきた仔の片方の対立遺伝子が操作を加えた細胞由来であることを確認する。ES細胞を利用した遺伝子改変マウスの作成と同様の方法である(第23章参照)。

24-3. 通常、特定の型へと分化した細胞は、分裂した後もその分化状態を維持する。この現象は細胞記憶として知られており、ゲノムの複製と分裂を経てもクロマチン構造が保たれ、同じ遺伝子発現パターンが維持されているためである。

24-4. S期の進行に関連する遺伝子群のプロモーターには、制御配列として E2F 結合配列が存在する。その配列に転写活性化因子 E2F と DP-1 が2量体を形成して結合するが、通常はこの複合体に RB が結合することで転写を抑制している。活性化された CDK4/6 により基質である RB がリン酸化を受けると、RB が複合体から解離することで S 期関連遺伝子群の転写が誘導される。その結果、S期の進行が促進される。S 期関連遺伝子群として DNA ポリメラーゼ、サイクリン E、そして CDK2 などがある(図)。

#### G1/S期移行の停止



リン酸化 (CDK4/6) ↓ ↑ 脱リン酸化

#### G1/S期移行の促進

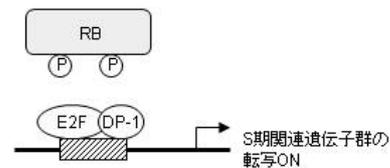


図 RBのリン酸化によるG1/S期移行制御の機構

24-5. p53 蛋白質は、DNA 障害チェックポイントの経路で活性化される転写因子で、CKI の1つである p21 の転写誘導により細胞周期を G<sub>1</sub> 期で止める。しかし、遺伝子の変異により機能が損なわれるとチェックポイントが働かなくなり、遺伝子の変異が変異しやすくなる。この状態を遺伝子の不安定化とよぶ。その結果、複数のがん関連遺伝子の変異が生じて細胞はがんとなる。p53 はまた Bax などの発現を介してアポトーシスを誘導する働きもあり、その機能が損なわれると本来アポトーシスを起こす細胞が生存できるようになる。この役割もがん細胞の生存に重要である。

24-6. アポトーシスの過程では、細胞がもつエンドヌクレアーゼが核内のクロマチンに作用することで DNA が切断される。クロマチンの基本構造は、ヒストンタンパク質に 146 塩基の DNA が 2 回巻きついたヌクレオソームであり、巻き付いてない部分をリンカー DNA とよぶ。このリンカーを含むヌクレオソームの 1 単位がおおよそ 180 塩基の長さである。エ

ンドヌクレアーゼが作用できるのは、ヒストンタンパク質のないリンカー部分であるために、断片化した DNA はおよそ 180 塩基の整数倍の長さとなる。

24-7. 細胞老化, つまり細胞周期進行の停止は CKI の働きによるものである。不死化した細胞では, CKI である p19 遺伝子などの変異があることが知られており, 細胞周期を止める機構の異常によって無限に増殖できると考えられている。この状態の細胞は, 正常な初代培養細胞と同様に, 細胞同士が接触することで細胞周期を停止する (接触阻止), そして増殖には培養シャーレに接着することが必要である (足場依存性) 性質を保持しており, がん化 (トランスフォーム) した細胞とは区別される。

(2009.06.26 作成)

(2010.07.20 訂正)