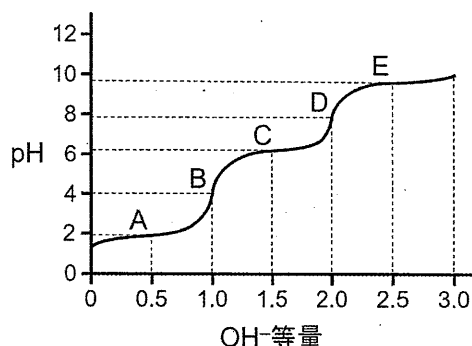
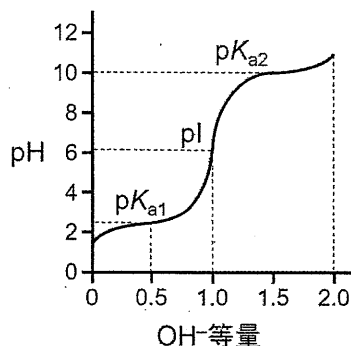


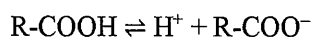
[問 1]

1. 以下の2つのグラフは、アラニン（左）とヒスチジン（右）の滴定曲線をそれぞれ表す。
以下の問いに答えよ。必要に応じて、（参考）の式も参照せよ。



（参考） $pK_a = -\log_{10}K_a$ $pH = -\log_{10}[H^+]$ $\log_{10}(A/B) = \log_{10}A - \log_{10}B$

- (1) アラニンの滴定曲線において、 pK_{a1} と pK_{a2} は酸解離定数、 pI は等電点を表す。
 $pK_{a1} < pH < pI$ の時に最も多く存在するアラニンのイオン化状態を構造式で示せ。
ただし立体異性は考慮しなくても良い。
- (2) ヒスチジンの滴定曲線において、 pI は図中 A-E のどれかを答えよ。
- (3) ヒスチジン側鎖のイミダゾール基の pK_a は図中 A-E のどれかを答えよ。
- (4) アラニンのような中性アミノ酸のカルボキシ基の解離について考える。中性アミノ酸を $R-COOH$ と表すと、水溶液中で以下の化学平衡が生じる。



それぞれの濃度を $[R-COOH]$ 、 $[H^+]$ 、 $[R-COO^-]$ と表すとき、酸解離定数 K_a を定義せよ。

- (5) (4)で導出した式を用いて、 pH と pK_a の関係式を導出せよ。
- (6) $pK_a = 3$ 、 $pH = 7$ である場合、(5)で導出した式を用いて、 $[R-COOH]$ に対する $[R-COO^-]$ の濃度比を求めよ。

2. 次の文章を読み、（ア）～（サ）に入る最も適切な語句または構造式を答えよ。

解糖の第1段階の反応は、（ア）→ グルコース 6-リン酸 である。このような反応を担う酵素の総称を（イ）という。この逆反応である、グルコース 6-リン酸 → （ア）の反応は、（ウ）の最終段階である。このような反応を担う酵素の総称を（エ）という。解糖によって、ピルビン酸とともに、水、プロトン、（オ）、および（カ）が生成する。

ピルビン酸 [構造式： $CH_3-C(=O)-COOH$] は細胞内で多様な運命をたどる。そのカ

ルボキシ化によりオキサロ酢酸〔構造式: (キ)〕に、そのアミノ基転移によりアミノ酸の一種〔構造式: (ク)〕に、あるいはその脱炭酸と還元反応を経て(ケ)に、それぞれ変換される。

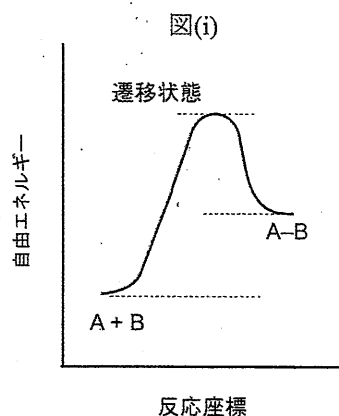
また、ピルビン酸は補酵素 A (HS-CoA) とも反応して(コ)〔構造式: $\text{CH}_3\text{-C(=O)-S-CoA}$ 〕に変換される。(コ)はオキサロ酢酸と反応して(サ)〔構造式: $\text{HO-C(COOH)(CH}_2\text{-COOH)}_2$ 〕が生じる。

3. 酵素の触媒反応に関する、以下の問いに答えよ。

- (1) 反応体 A と反応体 B が結合して A-B を生じる反応 ($\text{A} + \text{B} \rightarrow \text{A-B}$) を考える。この反応は 1 段階であり、1 種類の遷移状態を経るものとする。この反応において、触媒酵素が存在しない場合 [条件(i)] のエネルギーダイアグラムを図(i)に表す。この図を参考にして、以下の条件(ii)と条件(iii)の 2 つの反応条件に対応するエネルギーダイアグラムを、解答欄の図(ii)および図(iii)にそれぞれ図示せよ。なお、条件(i)~条件(iii)の間で自由エネルギーの相対関係が比較できるように描くこと。

条件(ii) 酵素 E が存在し、反応体 A と反応体 B が共に酵素と結合するが、遷移状態の反応中間体は酵素 E と結合しない。

条件(iii) 酵素 E が存在し、反応体 A と反応体 B および遷移状態の反応中間体のすべてが酵素 E と結合する。



- (2) 反応における「活性化エネルギー」とは何か、を文章で説明せよ。
- (3) プロテアーゼの一種であるパパインは、活性部位に存在するシステイン残基を利用してタンパク質内のアミド結合を切断する。以下の問いに答えよ。
- (a) パパインの反応機構は、システイン残基による水分子からのプロトン引き抜きと、それによって生じるヒドロキシリオンによるアミド結合への求核攻撃を含む。タンパク質のアミド結合を図示しながら、この反応機構を描け。
- (b) パパインのプロテアーゼ活性は pH 依存性を示す。この理由を説明せよ。

[問 2]

1. ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) についての説明文を読み、以下の問いに答えよ。

PCR は特定の DNA 断片を大量に合成する方法として、1983 年にシータス社の研究者であった (ア) により開発され、現在では生物学研究、診断、医療、農業、犯罪捜査や公衆衛生などさまざまな分野で利用されている。PCR は主に、①熱変性、②アニーリング、③伸長反応、の 3 ステップの反応を繰り返すことで、短時間で特定の DNA 断片を増幅することができる。PCR の開発当初は、大腸菌の DNA ポリメラーゼ I のズブチリシン処理によりその (イ) 活性を除去させたクレノー断片を用いて DNA 伸長反応を行っていた。しかしこの場合では、熱変性ステップの高温により酵素が失活してしまうため、反応サイクルごとに手作業で酵素を添加する必要があり非効率的であった。この問題は、その後、*Thermus aquaticus* 由来の (ウ) DNA ポリメラーゼを用いることで解決され、現在の PCR の基本型が確立された。

- (1) 空欄 (ア) ~ (ウ) に入る、最も適切な語句を答えよ。
(2) 下線部の 3 ステップの各反応について、以下の語群内の語句を用いて説明せよ。その際、各ステップの説明では、以下の語句の少なくとも 1 つを使用すること。また語群内の各語句は、いずれかの解答において少なくとも 1 度は使用すること。

語群：

鋳型 DNA、一本鎖 DNA、二本鎖 DNA、dNTP、DNA ポリメラーゼ、 プライマー、水素結合

- (3) PCR の反応溶液組成を任意に選択することで、遺伝子増幅産物にランダムな変異を導入することができる。このようなランダム変異導入法の名称を答えよ。また、その実験手法の原理について説明せよ。

2. 以下の文章を読み、問いに答えよ。

ゲノム情報が未知である原核生物 A のゲノム DNA を鋳型として、酵素 B の遺伝子を PCR で増幅したのち、プラスミドベクターへクローニングしたい。酵素 B の N 末端と C 末端のアミノ酸配列は、下記のように 8 残基ずつが判明している。この実験に用いる 1 対の縮重プライマー^{*1} の設計にあたり、以下の 4 つの条件を設定した。1) PCR 増幅産物において酵素 B の N 末端側に相当する DNA 末端には *EcoRI* サイト(5'-GAATTC-3')を、酵素 B の C 末端側に相当する DNA 末端には *HindIII* サイト(5'-AAGCTT-3')を、それぞれ付加する。2) プライマー配列は下記の「酵素 B のアミノ酸配列」のすべてに対応する塩基配列を含む。3) プライマーの長さは制限酵素認識配列を含め 30 塩基とする。4) イノシン塩基は用いない。以下の遺伝暗号表と混合塩基の IUPAC 表記を利用して、これらの条件を満たす 1 対の縮重プ

プライマーを設計し、それらの配列を縮重度^{※2}と共に解答せよ。また各プライマーの制限酵素認識配列には下線を引くこと。

※1 アミノ酸のコドンに対応する複数の塩基配列が混合されたプライマー

※2 縮重プライマー内に含まれる、すべての塩基配列のパターンの合計値

酵素 B のアミノ酸配列 (N 末端) : [N 末端] Met-Ala-Trp-Val-His-Gly-Ala-Glu

酵素 B のアミノ酸配列 (C 末端) : Ile-Tyr-Cys-Gly-Val-Asp-Phe-Gln [C 末端]

遺伝暗号表

↓1文字目 2文字目 →	U		C		A		G		↓3文字目
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G

混合塩基の IUPAC 表記

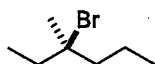
記号	R	M	W	S	Y	K	H	B	D	V	N
塩基	A, G	A, C	A, T	C, G	C, T	G, T	A, T, C	G, T, C	G, A, T	A, C, G	A, C, G, T

[問 3]

1. 次の化合物の化学構造式を描け。また、不斉炭素に*印をつけよ。

- (1) 2-エチルシクロペンタノン (2) (*E*)-3,3-ジエチル-6-メチル-4-ノネン
 (3) 5-エチル-5-メチル-1-ヘプタノール (4) 3,3-ジエチル-1,6-ヘプタンジオール
 (5) 4-ヒドロキシ-2,2,4-トリメチルヘプタナール

2. (*R*)-3-ブロモ-3-メチルヘキサンをメタノールと反応させた。生成物の比旋光度を測定すると 0 であった。以下の問いに答えよ。

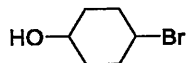


(*R*)-3-ブロモ-3-メチルヘキサン

(1) この反応の生成物の構造式を描け。

(2) この反応は S_N1 反応かそれとも S_N2 反応か、反応様式とともに比旋光度が 0 になる理由を答えよ。

3. シス-4-ブロモシクロヘキサノールとトランス-4-ブロモシクロヘキサノールにヒドロキシイオンを作用させると同一の脱離生成物を与えたが、異なる置換生成物も与えた。以下の問いに答えよ。



4-ブロモシクロヘキサノール

(1) 同一の脱離生成物の構造式を描け。

(2) 異なる置換生成物として、それぞれ $C_6H_{12}O_2$ 、および $C_6H_{10}O$ で表される生成物の構造式を描け。

(3) シス-4-ブロモシクロヘキサノールとトランス-4-ブロモシクロヘキサノールから異なる置換生成物が生じる理由を説明せよ。

4. 2-ブロモ-2-メチルブタンにナトリウムメトキシドを作用させると、2-メチル-2-ブテンと 2-メチル-1-ブテンがそれぞれ 70%と 30%の収率で得られた。以下の問いに答えよ。



2-ブロモ-2-メチルブタン

(1) この反応を化学構造式で描け。また、反応機構を電子の動きを表す巻き矢印を使って描け。

(2) 2-メチル-2-ブテンが主生成物として得られる理由を答えよ。