

問題 6 (生物学)

以下の文章を読み、各問に答えよ。

大腸菌の RNA polymerase (RNAP) を用いてタンパク質の変性と再生および DnaK の機能に関して以下の実験を行った。

実験 1 : 精製した RNAP 溶液を 50°C で 10 分処理すると酵素は失活する。熱処理した酵素溶液に最終濃度が 8M になるように尿素を加え、尿素を含まない緩衝液に対し 10 時間透析した。透析処理した RNAP の活性を測定すると、元の酵素の活性の 40 % であった。

実験 2 : RNAP (1 μ g) の溶液を、50°C で熱処理したときの残存酵素活性と熱処理時間の関係を調べた。また、熱処理時に 10 μ g の DnaK (熱ショックタンパク質の 1 つ) または BSA (牛血清アルブミン) を共存させた場合の影響を解析した。これらの結果を図 1 にまとめた。

実験 3 : 50°C で 10 分処理した RNAP (1 μ g) 溶液に、ATP の存在下および非存在下で DnaK または BSA を量を変えて添加し、30°C で 30 分インキュベートして酵素活性を測定した。結果を図 2 にまとめた。

実験 4 : 熱処理した RNAP (1 μ g) の溶液に ATP の存在下および非存在下で 10 μ g の DnaK を添加し、30°C で 30 分インキュベートした。サンプルをゲルろ過カラムクロマトグラフィーにかけ、各フラクション中の RNAP を SDS-PAGE により定量したところ図 3 に示す結果を得た。

問 1) RNAP の活性測定に使用される必須の成分を 2 つ上げ、それぞれの役割を述べよ。

問 2) 実験 1 において熱処理したとき、8M 尿素を加えたとき、および透析後の酵素の状態 (構造) について、熱処理前と比較して論じよ。

問 3) 尿素処理した酵素溶液の透析により酵素活性が回復するという実験は、タンパク質の性質についての重要な概念を生んだ。その概念とはなにか。また、この種の実験を最初に行った研究者は誰か。

問 4) 実験 2-4 の結果の要点を述べ、主な結論を簡潔に述べよ。

問 5) 熱ショックタンパク質の機能を表す一般名とこれらのタンパク質の非ストレス下での生理機能について述べよ。

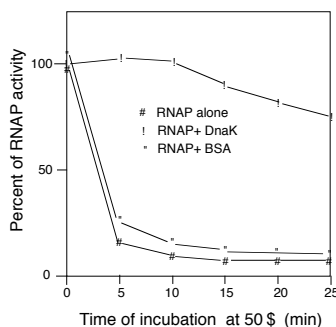


図 1

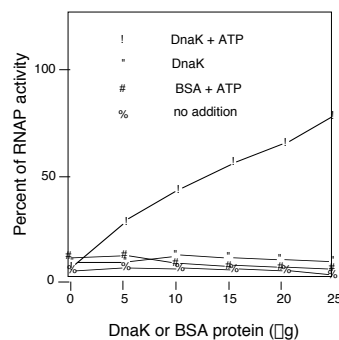


図 2

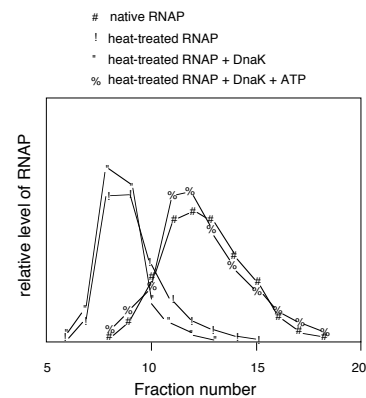


図 3