

問題 10 (生物学)

問1)

4 量体で機能するタンパク質 A がある。このタンパク質水溶液の pH を下げて、[酸変性/単量体への解離]を行った。次に pH を急速に中性に戻すことにより、[巻戻り/4 量体形成]を行い、350 nm の光散乱と励起波長 280 nm の蛍光の時間変化を同時に追跡した。光散乱は 10 s^{-1} で増加し、この速度はタンパク質の濃度を増すと増大した。蛍光は減少し、減少の時間変化は二相性を示した。蛍光の時間変化で、最初に観測される速い減少過程は光散乱の増加速度と一致したが、続いて観測される遅い減少過程はタンパク質濃度によらず、一定の速度であった。

以上の実験結果を解釈せよ。ただし、光散乱と蛍光測定でどんな情報が得られるか、二相性を示す二つの過程は何を意味すると考えられるかについて言及すること。

問2)

β シート構造に富む 53 残基から成るタンパク質 B は、残基 2~6, 残基 19~23, 残基 28~32 がこの順番で逆平行 β シートを形成し、残基 24~27 はループを作る。このタンパク質の ^1H NMR シグナルを各残基に帰属した後、pH を変えて化学シフト値の変化を追跡した。Asn1 の C_αH シグナルは pH 8.0 付近のみで大きな化学シフト値の変化を示した。また、残基 2, 3, 4, 22, 23, 24, 28, 29, 30 のシグナルは pH 8.0 付近で小さな化学シフト値の変化を示した。His22 の芳香族 ^1H シグナルは pH 6.0 で大きな化学シフト変化を示した。また His22 以外では残基 2, 3, 23, 29 のシグナルのみが pH 6.0 付近で小さな化学シフト値の変化を示した。また CD スペクトルを測定したところ、240 nm 以下のスペクトルは pH 6.0 付近では全く変化しなかったが、pH 8.0 付近では大きく変化した。

以上の実験結果を解釈せよ。ただし、各シグナルの化学シフト値の変化はどのような解離基が解離することの影響か、解離の影響が及ぶ範囲の差異は何を意味しているかについて考察すること。