

生物化学 A2006 年度

- (1) 機能性ペプチドとは何か？
- (2) たんぱく質の分子中の結合を三つ上げなさい
- (3) 失活後の酵素を再処理し、機能を復活させた。この際処理の行程と、それからいえるたんぱく質の構造について述べよ。
- (4) SNPs より一次構造が重要な理由を述べよ
- (5) SDS-PAGE はたんぱく質の何について分離・精製するか？精製法も述べよ
- (6) 穴埋め問題

アミノ酸は(20)種類。光学異性体がないのは(グリシン)。アミノ酸は(側鎖)によって分類。さらにその極性からいくつかに分類。中性になるpHを(等電点)という。タンパク質分子内では重要な(水素)結合をもったり、他には(ジスルフィド)結合の基になるS分子をもつ(メチオニン、システイン)や、昆布のうまみ成分をもつ(グルタミン酸)がある。たんぱく質の折り畳みを(二次構造)といい、( $\alpha$ -ヘリックス)や $\beta$ シート構造をもつ。分子( )により高次構造が形成される。酵素により装飾されるものもあり、たんぱく質中25%骨や筋肉に含まれる(コラーゲン)の構成アミノ酸(プロリン)が代表的。補酵素に(ビタミンC)を用いる。不足すると欠乏症になる。

- (7) 髪の毛の伸びるたんぱく質 $\alpha$ -ケラチンと、絹の伸びないたんぱく質フィブロリンの違いを構造から説明せよ
- (8) 酵素と化学触媒の違いを3つあげよ
- (9) アロステリック酵素の意味とその重要性についてのべよ

#### (1) 機能性ペプチドについて

側鎖やその立体構造によって特定の機能を持ったペプチドのことを言うらしい。

機能性ペプチドとして授業中取り上げていたものは

- ・ グラミシジン⇒興奮剤 納豆菌と作る微生物と同じ微生物がつくる・・・  
→ネットでは猛毒とも出てたのだが・・・
- ・ オピオイドペプチド⇒脳のモルヒネ受容体⇒脳が活性化⇒目覚め、頭がよくなる

アミノ酸をペプチドにすることによって①加水分解による不安定性がさがり、②溶解度があがり、(→電離しやすくなる?) ③新しい生理的機能をもつ らしいです！

もうひとつ言っていたのが

- L-Asp, L-Pheをジペプチドにすることによってアスパルテーム(強い甘味料)がつくられるらしい！  
この開発に桐村氏の父親が絡んでいたという涙の秘話がある。

ジペプチドを作る方法としては化学合成法と酵素法がある。そして一方だけのC末端とN末端が反応するように保護基をかける。合成後保護基をはずすのだが、その手間を省くことができるのが酵素法である！(二枚目パワポ参照)

## (2) たんぱく質の分子中の結合を三つ上げなさい

答えは青字で書いたところ

タンパク質の分子構造というのは、一次構造から四次構造までに分析してみるができる。

イメージ的には一次はアミノ酸の並べ方(Glu-Ala-Asp-Ser…),二次はそれが一番安定に存在できる決められた立体構造、三次は二次構造がつながってできているもの。逆に言えば三次構造の中にある規則的な構造単位が二次構造。また三次構造の中に頻繁に出てくる構造単位としてモチーフがある。

たとえば1, 2, 5, 6, 7, 3, 5, 6, 3, 2, 5, 6, 4

ってあったら5, 6になにか名称をつけたくなるもので、それがモチーフなんじゃないかと思われる。  
多分・・

### • 一次構造

⇒アミノ酸の配列。DNAに記載された情報というのは立体構造ではなくアミノ酸の単純な配列だけであるらしい。タンパク質の構造が一次的な配列だけで決まるのは一次配列が決まるともっとも安定なタンパク質の構造というのが自然と決まってくるからであろう。というのはタンパク質の立体構造でより安定なものは

- ①C=OやN-Hといった水素結合ができるものがすべて水素結合していた方が安定
  - ②疎水基は水溶液に触れていない方が安定
  - ③タンパク質構造に無理なひずみが生じない方が安定
- といった条件が決まってくるからである。

### • 二次構造

⇒アミノ酸が水素結合によって規則正しく並んだ立体構造の種類のひとつ。水素結合がN-H, C=O 四個おきに結合している $\alpha$ ヘリックス(螺旋)構造と、水素結合が隣り合う割と平行な分子間で結合している $\beta$ シートの二種類がある。また、 $\beta$ シートと $\alpha$ ヘリックスのつなぎめにループ構造も見られるらしい。さらにヘリックスとシートが組み合わせさせた超二次構造もある。プリオンの問題などは二次構造の変化に由来する。

### • 三次構造

⇒二次元構造が規則的に配列されていたのに対して、三次元構造は分子間の結合により不規則に配列した、タンパク質の最終的な立体構造のことである。 $\alpha$ ヘリックスなどが普通の不規則な

ペプチド結合などと **van der Waals力**、**ジスルフィド結合**(シスチン結合(システイン同士の結合))、**疎水的相互作用**、**イオン結合**などにより結合している。三次元構造はモチーフと呼ばれるあるきめられた小さな構造が何箇所にもあったりする。モチーフは超二次構造のことであったり、構造的にひとまとまりであるドメインであったりする。モチーフの中には **ロイシンジッパー** とよばれるロイシンが七残基ごとに現れるものがある。

#### ・四次元構造

⇒三次構造をひとつのsubunitとしてそれが二つ以上くみあわさったもの。これにより

- ・タンパク質が壊れたときにそのうち壊れた部分を含むsubunitだけを修復すればよく、治し易い
  - ・機能を調節しやすい。(アロステリック酵素など)
  - ・多機能分子や大きな構造体をつくりやすい
- といった利点が得られる。

### (3) 失活後の酵素を再処理し、機能を復活させた。この際処理の行程と、それからいえるたんぱく質の構造について述べよ。

問3の修復の問題についてです！ 詳しくはデータもとの

<http://www.res.titech.ac.jp/~seibutu/main.html?right/~seibutu/projects/cpn01.html>をみて。foldingとかについても載ってます！

肝心なことはタンパク質は一次構造、二次構造によってその全体の構造が決められることがおおく(プリオンなどは別として)、たとえ熱や試薬によって三次構造、すなわちS-S結合などが決裂したとしても一次構造が壊れていなければ修復の余地があるかもしれないということ！

上のホームページを要約すると高濃度尿素によって編成したたんぱく質を透析により尿素を除去することで修復できるってことで、これによってわからたんぱく質の性質っていうのはたんぱく質活性っていうのは立体構造ではなくてアミノ酸配列によって決まるっていうこと。リボヌクレアーゼAっていうのを知っておいた方がいいのかもしれない。

ただし注意すべきは変性が修復されるのは試薬によって変性された場合で、熱処理されたときは分子シャペロンによってたんぱく質のfoldingをもとの形状に戻そうとする作用が働く。これは

分子シャペロンがたんぱく質がもとのNative状態に戻るときの活性化エネルギーを低くする効果があるということである。

#### (4) SNPsより一次構造が重要な理由を述べよ

民族によって、DNAのアミノ酸配列が異なる部分がある。そういった種による配列の違いをみたものが一塩基多型(SNPs)である。(多型はそもそも同一種の中での形質の違いをさす。一塩基多型は同一の種の中でもDNAに幅があることを言う。)

これに対して生体物質のタンパク質の一次構造が一部、それこそ一塩基ことなることによって重大な病気をもたらすこともある。

→鎌状赤血球貧血

ヘモグロビンの二箇所のGlu(親水基大)がVal(疎水基)にかわることによりヘモグロビンが不溶性の繊維状態になってしまうらしい。これにより貧血気味になってしまうらしい。

#### (7) αケラチンが伸びやすく、フィブロインが伸びにくい点

うまくまとまらなかったけど下みたいな話らしいです。結合の種類の違いがこういう性質をつくっている・・・αケラチンとフィブロインの構造はマクマリー下巻のタンパク質の項の最後の方に載っていました！

αケラチンはαヘリックス構造の鎖をもっている。このαヘリックスはN-HとC=Oの水素結合が四個おきにできることで螺旋構造を描いている。さらにαケラチンはαヘリックス構造の両端に規則性のないペプチド結合が存在し、またこの鎖が二分子結合して二量体となっている。この二量体内部で各鎖の非極性基が互いに近づいて水分子から隠れている。これにより二量体の結合が強くなっている。また、二量体の間にジスルフィド結合(シスチン結合)が存在し、これによっても結合が強くなっている。さらに二量体の二本の鎖の間でペプチド結合もできている。また、ケラチンの強度の35パーセントをしめるというグルタミン酸などによるイオン結合も二量体間に存在する。

これにたいしてフィブロリンはβシートの構造をもっている。これは2本の規則的なペプチド鎖の鎖が分子間の水素結合で結びついている構造である。すべての水素結合可能な基はこれによってすべて水素結合ができる。これにより分子が結晶構造をとるようになり、強度が高くなるらしい。(→ケラチンの水素結合が弱いのにに対してなぜこっちは結晶構造をとるのかよくわからない!)フィブロリンのアミノ酸はグリシンとアラニン、リシンが80パーセントを占めている。

一般に水素結合は微弱な結合であり、αケラチンを引っ張ることでまずこの水素結合が切れていく。しかし、システインが結合したシスチン結合は強力な結合なので相当な力を加えないと切

れない。これが切れると螺旋構造がこわれ、髪の毛は元の形に修復されなくなる。

#### (8) 酵素と化学触媒の違い

##### 1. 反応速度が大きい。

⇒酵素による反応速度の増大は $10^6 \sim 10^{12}$ であり、触媒による反応速度の増大は？これより数桁おそいらしい

##### 2. 酵素反応は穏やかな条件で進む

⇒微生物の持つ酵素というのは普段から常温で反応が起きているわけで、触媒反応のように高圧、高温で反応させないといけないわけではない。これはGreen Chemistryの真髄である。

##### 3. 特異性

⇒基質特異性がある。高選択性で、ある酵素に対しては特定の生成物が特定の割合でできる。したがって副生成物などがなく、収率が非常に安定するといえる。これはグリーンケミストリーの真髄といえる。木野研いきたい・・・

##### 4. 調節能

⇒酵素活性を調節するアロステリック酵素などによって、生成物のしょうずる適正量に応じて酵素の活性を調節できる。

#### (9) アロステリック酵素の意味と重要性

酵素の活性点、つまり基質と結合する部位以外の部分と結合することで酵素の構造を変化させて酵素の活性を増減させる効果があるアロステリック因子によって、活性を調整されることが出来る酵素。酵素の活性がありすぎると生成物ができすぎてしまうことがあり、これを避けるために活性の調整を行う必要がある。なにごとにも程々が必要。

#### その他出そうなポイント

##### ・プリオンの話

プリオン・・・感染性の変化をするタンパク質のこと  
なぜ感染性をもつか？

→正常プリオン中の二次構造の $\alpha$ -ヘリックスが $\beta$ シートに変換されることで病的なプリオンが生ずる。二次構造が変化することにより、分子の構造が変わり分子内の結合も変化する。この異常プリオンが体内に入ると(遺伝的 or 食事などから)体内の正常プリオンを次々に異常プリオンに変換して言うてしまう。

→異常プリオンの例は有名な BSE、牛海綿状脳症、クロイツフェルトヤコブ病などで

