

生物工学 II

次の[II - 1]~[II - 3]の3題を、それぞれ別の解答用紙に答えよ。

[II - 1] (生物)

(問1) 次の文章の[ア]から[サ]の空欄に入れるのに適切な語句を回答せよ。

細胞を細胞外と細胞質に隔てる細胞膜は、[ア]で構成される。細胞膜はその表面が[イ]性で、その内部は[ウ]性である。このため、細胞膜はほとんどの水溶性分子の透過を妨げる。しかし、細胞は周囲の環境と分子を交換することで生命を維持しており、様々な水溶性分子が細胞膜を透過する必要がある。例えば、[エ]や[オ]などの栄養物を取り込み、CO₂のような廃棄物を排出しなければならない。H⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺などのイオンの細胞内濃度も調節しなければならない。こうした溶質のうち、CO₂やO₂など[ア]を拡散によって透過するものもあるが、大部分は透過できない。これらは膜内輸送タンパクの助けで膜を透過する。このタンパク質は膜を貫通しており、特定の物質だけを透過させる通路の役割を果たす。膜内輸送タンパクは大きく2種類に分けられる。1つは、運搬体タンパクであり、膜の片側で溶質と結合し、それ自体の構造を変えて有機分子やイオンなどの溶質を膜の反対側に運ぶ。もう1つはチャネルタンパクであり、膜に小さな親水性の小孔を形成し、溶質はこの孔を拡散的に通過する。

ある溶質（分子あるいはイオン）の細胞外濃度が内部より高く、その溶質に適切な運搬体タンパクかチャネルタンパクがあれば、その溶質は受動輸送により、自然に膜を透過して細胞内に入り込む。このとき膜内輸送タンパクによるエネルギー消費はない。一方、溶質をその[カ]に逆らって移動させるには、膜内輸送タンパクが何らかのエネルギー源を利用して仕事をする必要がある。このような移動方法を[キ]とよぶ。電荷をもたない分子の受動輸送の方向は、[カ]だけで決まるが、イオンや電荷をもつ分子の移動には、細胞膜の両側の電位差である膜電位に起因する力も関わる。細胞質側（内側）は外側に対して電位が低くなっているのが通常で、正電荷をもつ溶質は細胞内に引き込まれ、負電荷をもつものは外部に運び出される傾向がある。[カ]と電位差を合わせた溶質移動の駆動力をその溶質の[ク]と呼ぶ。細胞は3つの方法で[キ]を行う。1つは、ある溶質の[ク]に逆らう方向の輸送と、別の溶質の[ク]に従う輸送を組み合わせた共役輸送の利用である。2つ目は、[ク]に逆らう輸送を[ケ]の加水分解と組み合わせる[ケ]駆動ポンプの利用である。3つ目は、バクテリオロドプシンのように、[ク]に逆らう輸送を[コ]からのエネルギー供給と組み合わせる[コ]駆動ポンプの利用である。動物細胞の[ケ]駆動ポンプには、Na⁺を細胞外に輸送するために[ケ]をADPに加水分解する膜内輸送タンパクがあり、これは[サ]という酵素でもある。このタンパク質は、Na⁺の外部への輸送をK⁺の内部への輸送と組み合わせて同時に行っており、Na⁺-K⁺ポンプと呼ばれる。Na⁺-K⁺ポンプは動物細胞のエネルギー収支に深く関与しており、全[ケ]の30%以上を使っている。Na⁺-K⁺ポンプの働きにより、細胞質のNa⁺濃度は細胞外液の約10~30分の1の低さに、K⁺イオンの濃度は10~30倍の高さに保たれている。したがって、電位差も合わせて考えると、Na⁺を内部に向かわせる[ク]による駆動力は大きい。

(次のページに続く)

(問 2) 一様な厚みをもった細胞膜をもつ球形の細胞を考える。球の中心から細胞膜を垂直につき抜ける任意の直線を座標軸 x とする。細胞の内側および外側の空間のそれぞれにおいて、溶質は一様に分布するものとし、細胞の内側および外側の空間におけるある特定種のイオンの濃度を x の関数として $C(x)$ と表す。また、細胞膜の内側と外側の膜面上の電荷は一様に分布するとする。位置 x の電位を $\phi(x)$ とする。膜にはこのイオンを選択的に透過する小孔が存在する。単位時間・単位面積あたりに膜を通過するイオンの流束 J は、

$$J = -D \left(\frac{dC}{dx} + \frac{zF}{RT} C \frac{d\phi}{dx} \right)$$

と表せる。ここで、 D はこのイオンの拡散係数、 z はイオンの電荷数、 F はファラデー定数、 R は気体定数、 T は溶質の温度である。膜内および膜外の適当な点をそれぞれ x_i および x_o とし、膜電位を $V = \phi(x_i) - \phi(x_o)$ とする。イオンの正味の流束 J が零となるような平衡状態における膜電位を E とする。また、 $C(x_i) = C_i$ および $C(x_o) = C_o$ と表す。

(a) $J = 0$ とした式を膜内の点 x_i から膜外の点 x_o まで積分することで、 E を z 、 F 、 R 、 T 、 C_i および C_o を用いて表せ。また、この電位 E を表す式は何と呼ばれるか答えよ。

(b) 細胞内外の Na^+ の濃度を、それぞれ $[\text{Na}^+]_i = 10 \text{ mM}$ および $[\text{Na}^+]_o = 73.9 \text{ mM}$ とする。溶質の温度が 37°C のとき、 $RT/(zF) = 26.7 \text{ mV}$ とする。このとき、電位 E の値はおおよそ何 mV になるか求めよ。尚、 $e \sim 2.718$ である。

(問 3) 次の文章の から の空欄に入れるのに適切な数式または数字を回答せよ。また、空欄 に対しては、答案用紙に適切なグラフを必要な数値と共に図示せよ。

イオンを選択的に透過する小孔に、膜電位 V に依存してイオンの透過し易さを制御する機構（ゲート）があるイオンチャンネルを考える。膜にはこのイオンチャンネルが多数あり、その総数を N とする。個々のイオンチャンネルは、開状態または閉状態の 2 状態を確率的にとり、個々のチャンネル開閉は独立に発生するとする。時刻 t において開状態にあるチャンネルの割合を $p(t)$ とすると、閉状態にある割合は と表せる。このとき、開状態にあるチャンネルの個数は $Np(t)$ で、閉状態にあるチャンネルの個数は である。個々のチャンネルに関して、微小時間 Δt の間に閉状態から開状態に遷移する確率を $\alpha(V)\Delta t$ 、開状態から閉状態に遷移する確率を $\beta(V)\Delta t$ とする。ここで、 $\alpha(V)$ と $\beta(V)$ は膜電位 V に依存した速度定数である。以下では、膜電位 V が一定値をとる場合を考える。時刻 t に開状態にあった $Np(t)$ 個のチャンネルのうち、時刻 $t+\Delta t$ に閉状態に遷移するチャンネルの個数の期待値は、 個である。同様に、時刻 t に閉状態にあった 個のチャンネルのうち、時刻 $t+\Delta t$ に開状態に遷移するチャンネルの個数の期待値は、 個である。よって、時刻 $t+\Delta t$ に開状態にあるチャンネルの個数の期待値は、時刻 t に開状態にあるチャンネルの個数の期待値から 個だけ変化する。したがって、 $p(t)$ の時間変化を記述する常微分方程式は、 $p(t)$ 、 $\alpha(V)$ 、 $\beta(V)$ を用いて、 と表せる。さらに、

$$p_\infty(V) = \frac{\alpha(V)}{\alpha(V) + \beta(V)}, \quad \tau(V) = \frac{1}{\alpha(V) + \beta(V)}$$

とおけば、これらを用いて、 $p(t)$ の時間変化を記述する常微分方程式は と表せる。

(次のページに続く)

このイオンチャネルのイオンの透過し易さを、膜の等価電気回路におけるコンダクタンス $G(V)$ で表現し、 \bar{g} を定数として $G(V) = \bar{g}p(t)$ とする。すなわち、開状態にあるチャネルの割合に比例して、コンダクタンスが増加する。すべてのチャネルが閉状態のときのコンダクタンスは となる。また、すべてのチャネルが開状態のときのコンダクタンスは、 となる。このとき、イオンチャネルを介して膜を通過する電流（チャネル電流）は（問 2）で求めた電位 E を用いて、 $I = G(V)(V - E)$ と表せる。ここで、膜電位 V を 2 つの異なる一定値に固定する仮想的電気生理実験を考える。 $t < 0$ において、十分長い間膜電位 V が 0 (V) に固定されていたとする。 $t = 0$ でステップ関数状に固定電位を 0.01 (V) に変化させた。以下では、具体的に $\bar{g} = 1.0$ (S), $\alpha(0) = 0.1$, $\beta(0) = 0.4$, $\alpha(0.01) = 0.4$, $\beta(0.01) = 0.1$, および、 $E = -0.01$ (V) の場合を考える。このとき、 $p_{\infty}(0) =$, $\tau(0) =$, $p_{\infty}(0.01) =$, $\tau(0.01) =$ となる。 $t = 0$ でステップ関数状に固定電位を 0.01 (V) に変化させる直前のコンダクタンスは、 (S) である。また、 $t = 0$ でステップ関数状に固定電位を 0.01 (V) に変化させた後、十分に時間が経過したときのコンダクタンスは、 (S) である。以上から、チャネル電流 I の時間変化を求め、その様子を図示すると のようになる。

（問 4） Na^+ および K^+ を選択的に透過するイオンチャネルの特性を用いて、典型的な活動電位生成のメカニズムを簡潔に説明せよ。

[II - 2] (物理)

タンパク質の分子量を求める古典的な方法の一つに、タンパク質溶液に遠心力を与えてタンパク質が沈降する過程を観測し、得られた沈降速度から分子量を見積もる沈降速度法がある。沈降速度法の原理に関する以下の問いに答えよ。必要であれば以下の定数を用いよ：重力加速度 $g = 9.81 \text{ m/s}^2$ ，Avogadro 定数 $N_A = 6.02 \times 10^{23}$ ，Boltzmann 定数 $k_B = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J/K}$ ，気体定数 $R = 8.31 \text{ J/K/mol}$

(問 1) 質量 m のタンパク質分子が密度 ρ の溶液中を速度 V で沈降する場合、タンパク質分子には重力・浮力・摩擦力が働く。分子に働く重力の大きさは (ア) である。浮力は重力と逆方向に働き、その大きさは分子が押しのけた液体に働く力の大きさに等しい。ここで、単位質量の溶質を多量の溶液に溶かした際の溶液の体積増加量を \bar{v} とする。 \bar{v} は偏比容と呼ばれる量である。溶かした溶質の体積は溶液の体積増加量に等しいと仮定すると、質量と偏比容を用いて分子の体積は (イ) と表わすことができる。よって浮力の大きさは (ウ) となる。摩擦力は分子の沈降速度 V に比例する。その比例係数 (摩擦係数) を f とすると、摩擦力の大きさは (エ) となる。沈降開始から一定時間が経過すると、摩擦抵抗の作用により、重力・浮力・摩擦力が釣り合い、分子の沈降速度は一定となる。このときの沈降速度は $V =$ (オ) と表わされる。

(a) 上の文章の空欄 (ア) ~ (オ) に適切な数式を入れよ。

(b) 分子量 64500 のタンパク質分子が重力により 1 mm 沈降するのに要する時間を計算せよ。この分子の摩擦係数は $f = 5.86 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ kg/s}^2$ ，偏比容は $\bar{v} = 0.752 \text{ ml/g}$ とする。また溶液の比重は $\rho = 1.00 \text{ g/ml}$ とする。

(問 2) 前問で見たように、重力により生じる沈降の速度は極めて小さく、粒子の拡散などの影響により沈降速度の測定は容易ではない。遠心機を用いて重力の代わりに遠心力を与えることで、遠心力方向への沈降の様子が観測可能となる。遠心機の回転角速度が ω の場合、回転中心からの距離 r の位置における遠心加速度は (カ) である。重力が遠心力に比べて十分に小さく無視できるとすれば、前問の重力に代わって遠心力が分子の運動を決定付ける。この遠心場においては、浮力は遠心力と逆方向に働き、その大きさは (キ) となる。回転中心から距離 r の位置にある分子の運動を定速とみなすと、遠心力・浮力・摩擦力の釣り合いを考えることにより、分子は遠心力方向へ定常速度 $V =$ (ク) で移動することがわかる。

(a) 上の文章の空欄 (カ) ~ (ク) に適切な数式を入れよ。

(b) 文中下線部の成立を確かめたい。毎分 45000 回転の遠心機において、回転中心から 6.00 cm の位置にある分子に働く遠心力は、重力の何倍になるか計算せよ。

(次のページに続く)

(問 3) 次の文章は、タンパク質の沈降速度に基づいたタンパク質分子の分子量 M の推定方法について解説したものである。空欄 (ケ) ~ (シ) の中に適切な数式を入れよ。

分子量 M とタンパク質分子の質量 m との関係は、Avogadro 定数 N_A を用いて $m =$ (ケ) と表わされる。この関係を、前問で求めた回転中心から距離 r の位置にある分子の定常速度 V を表す式に適用すると、分子量 M は次のようになる。

$$M = \text{(コ)} \quad (1)$$

式(1)の右辺に現れる各変数の値を実験から得られれば、分子量 M が推定できる。偏比容 \bar{v} および溶液の密度 ρ は沈降実験とは別の実験により測定可能である。摩擦係数 f の直接的な測定は困難であるが、摩擦係数 f と拡散係数 D の間に成立する関係式

$$f = \frac{k_B T}{D} \quad (2)$$

を適用することで、測定が比較的容易な拡散係数 D で置き換えることができる。ここで T は絶対温度である。式(2)を用いて、式(1)から f を消去すると、

$$M = \text{(サ)} \quad (3)$$

となる。

遠心機による沈降過程に関係する項は、分子の回転中心からの距離 r と、その位置における分子の移動速度 V 、および遠心機の回転角速度 ω である。遠心場における沈降実験では、 r と V を別個に測定するのではなく、次式に示す沈降係数 s として測定する方が容易である。

$$s = \frac{V}{r\omega^2} \quad (4)$$

式(3)に式(4)を適用し、また気体定数、Boltzmann 定数と Avogadro 定数の間に成立する関係 $R = k_B N_A$ を用いることで、タンパク質の分子量 M は s, D, ρ, \bar{v}, T および気体定数 R で表わされ、

$$M = \text{(シ)} \quad (5)$$

となる。

(問 4) 毎分 45000 回転する遠心機で分子量未知のタンパク質分子を沈降させ、分子量を決定したい。

- (a) 沈降係数 s はタンパク質分子の移動を観測することで実験的に得られる。時刻 $t_1 = 0$ s で回転中心から距離 $r_1 = 6.00$ cm にあった分子が、時刻 $t_2 = 5.80 \times 10^3$ s で回転中心から距離 $r_2 = 6.20$ cm の位置に移動するのが観測されたとする。遠心機においては $V = dr/dt$ であるから、沈降係数は、

$$s = \frac{\left(\frac{dr}{dt}\right)}{r\omega^2} \quad (6)$$

と表せる。式(6)を時刻 t_1 から t_2 まで積分することで沈降係数を決定せよ。必要であれば次の値を用いよ。 $\ln 6.0 = 1.792$, $\ln 6.2 = 1.825$

- (b) このタンパク質分子の拡散係数は $D = 9.50 \times 10^{-11}$ m²/s であるとして、分子量を求めよ。沈降係数は (a) で求めた値を用いよ。ただし、このタンパク質分子の偏比容は $\bar{v} = 0.733$ ml/g、溶液の温度は $T = 20.0$ °C、溶液の比重は $\rho = 1.00$ g/ml とする。

[II - 3] (情報・システム)

細胞外環境の情報を細胞内に伝達する仕組みにシグナル伝達系がある。シグナル伝達系は、タンパク質を要素として、それらの相互作用から構成されるネットワークである。シグナル伝達系のネットワークでは、構成要素であるノードはタンパク質を、要素間結合を表すエッジはタンパク質間の方向をもった相互作用を表す。

シグナル伝達系の情報処理は通常、細胞外にあるリガンド分子がレセプタータンパク質に検知されることから始まる。リガンド分子がレセプターに結合すると、レセプターの構造が変化し、細胞内に面したレセプターのある領域が活性化され、その活性部位が細胞内を拡散するメッセンジャータンパク質を化学修飾する。この修飾は、次のメッセンジャータンパク質を修飾し、この過程が順次繰り返され、ネットワーク内を情報が伝搬していく。

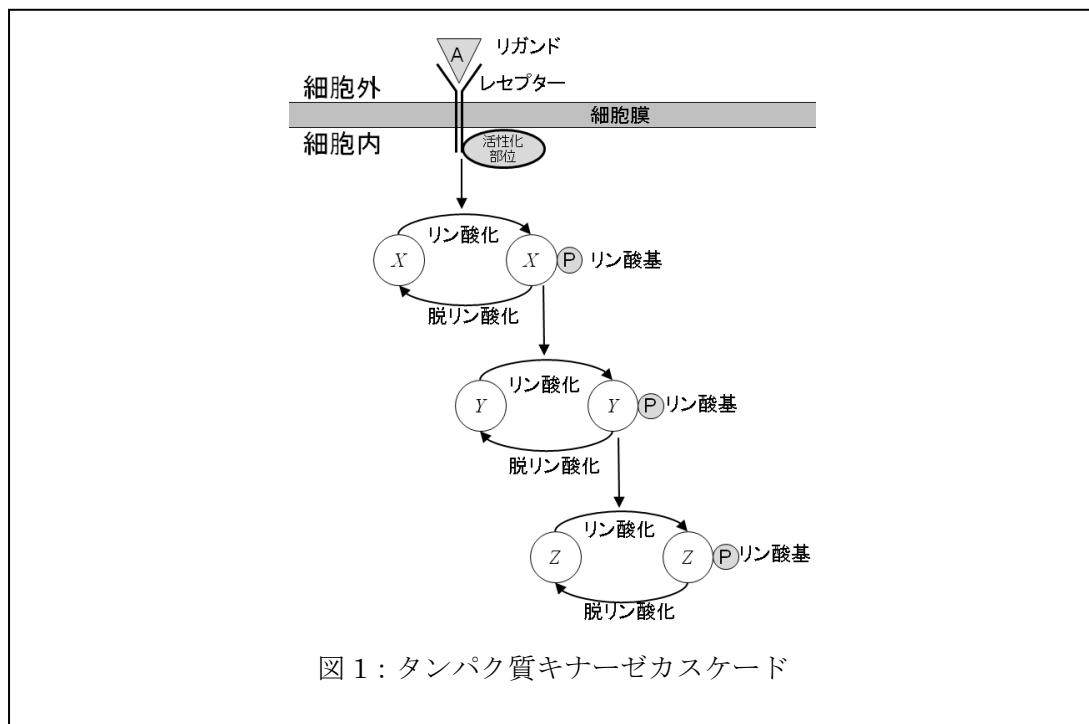


図 1 に示すタンパク質キナーゼカスケードは、シグナル伝達系の 1 例である。カスケードは、キナーゼとよばれる特定のターゲットタンパク質をリン酸化するタンパク質 (X, Y, Z) から構成される。図 1 では、キナーゼ X がレセプターによって活性化されると、キナーゼ Y をリン酸化する。キナーゼ Y がリン酸化されると、次にキナーゼ Z がリン酸化される。さらに、キナーゼ Z がリン酸化されると、転写因子をリン酸化し、あるタンパク質の遺伝子の発現を誘発する。また、このカスケードは脱リン酸化酵素とよばれる特定のタンパク質酵素がキナーゼの脱リン酸化を行っており、タンパク質キナーゼカスケード内では、リン酸化と脱リン酸化が繰り返される。タンパク質キナーゼカスケードでは、多層構造を構成して論理積、論理和、排他的論理和などの論理演算と似た情報処理が可能である。以降では、タンパク質キナーゼカスケードで可能な情報処理がどのような論理演算と似た演算かを考える。

(次のページに続く)

キナーゼ Y が 2 つの異なるキナーゼ X_1 と X_2 によってリン酸化される図 2 を考える。リン酸化された Y を Y_p と、リン酸化されていない Y を Y_0 と各々記述する。リン酸化されていないキナーゼ Y_0 とリン酸化されたキナーゼ Y_p の総量は一定であり、 Y の濃度を $[Y]$ で表すと

$$[Y_0] + [Y_p] = [Y] \tag{1}$$

である。また、 $X_i (i=1,2)$ による Y のリン酸化速度が、活性化している X_i の濃度と Y_0 の濃度の積に比例する 2 次反応に従うものとする、

$$\text{リン酸化速度} = k_i [X_i] [Y_0] \quad (i=1,2) \tag{2}$$

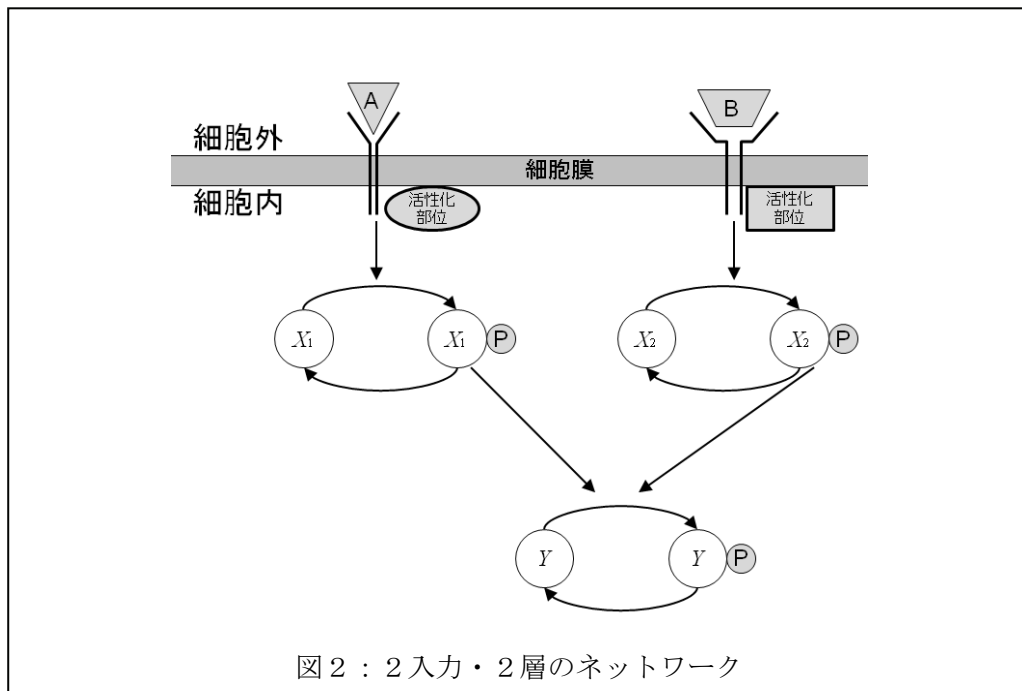
である。ここで、 k_i は定数である。脱リン酸化酵素による Y_p の脱リン酸化反応が一次反応であるとき、 Y_p の濃度の変化速度は、2 つのキナーゼ X_1 と X_2 によるリン酸化反応と Y_p の脱リン酸化反応（速度定数 α ）によって、

$$\frac{d[Y_p]}{dt} = k_1 [X_1] [Y_0] + k_2 [X_2] [Y_0] - \alpha [Y_p], \tag{3}$$

と与えられる。このとき定常状態では、 $d[Y_p]/dt = 0$ であるから、

$$[Y_p]/[Y] = f(w_{X_1 Y} [X_1] + w_{X_2 Y} [X_2]) \tag{4}$$

となる。ただし、 f は単調増加の飽和関数であり、 $w_{X_1 Y} = k_1 / \alpha$ 、 $w_{X_2 Y} = k_2 / \alpha$ である。



(問 1) 式(4)の関数 f を求めよ。ただし、 $y=f(u)$ のように u の関数として表せ。

(次のページに続く)

以降の問題では、簡単のために、定常状態のみを考え、関数 f は図 3 に示す閾値関数とする。図 3 において、縦軸の $y=0$ は不活性（リン酸化されていない）状態を、 $y=1$ は活性（リン酸化）状態を表す。 X_1 と X_2 の活性状態の割合が値 x_1 と x_2 であり、条件 $w_{X_1Y}x_1 + w_{X_2Y}x_2 = 1$ を満たすとき、 X_1 と X_2 は活性化閾値にあるという。

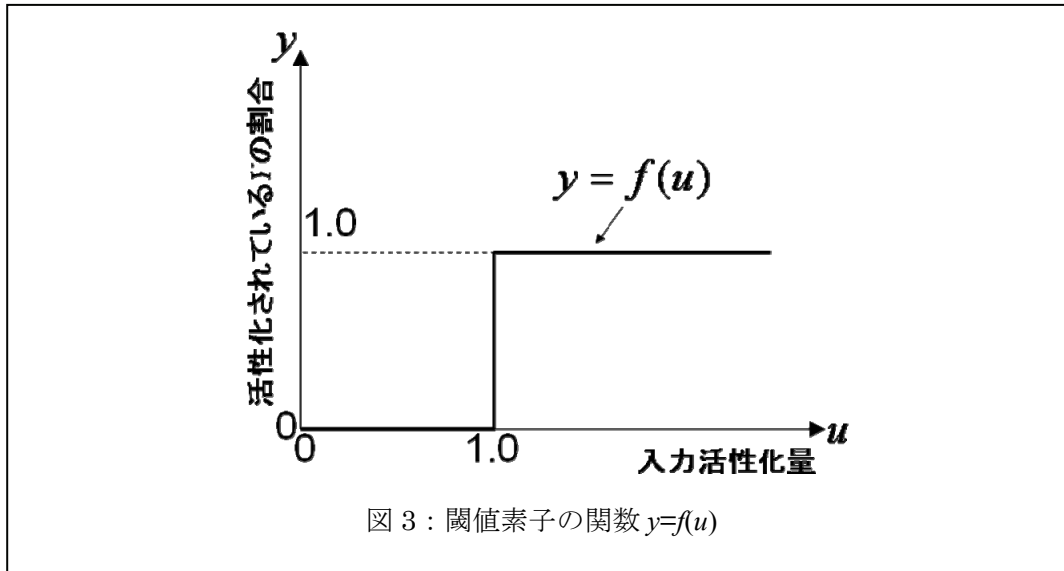


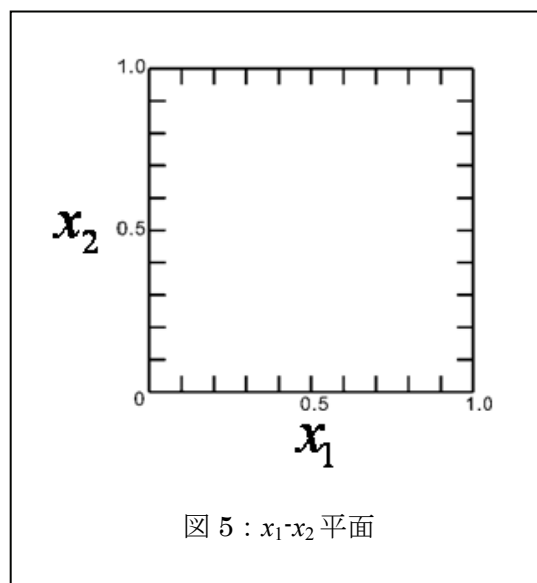
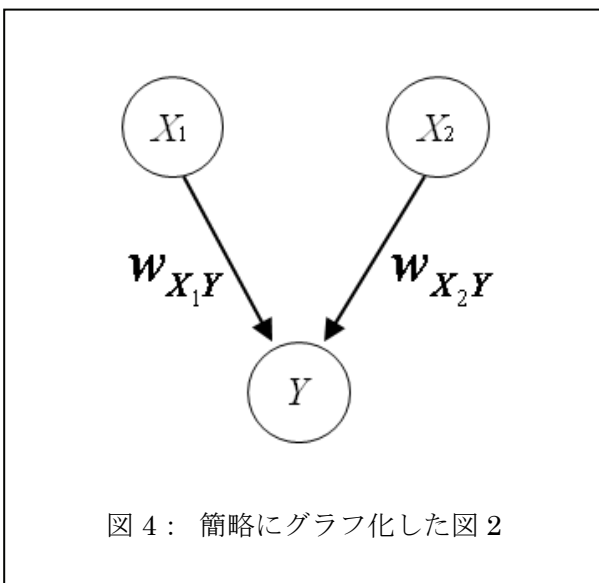
図 4 は図 2 を簡略化（グラフ化）したものである。 Y の出力 y は

$$y = f(w_{X_1Y}x_1 + w_{X_2Y}x_2) \tag{5}$$

で与えられる。

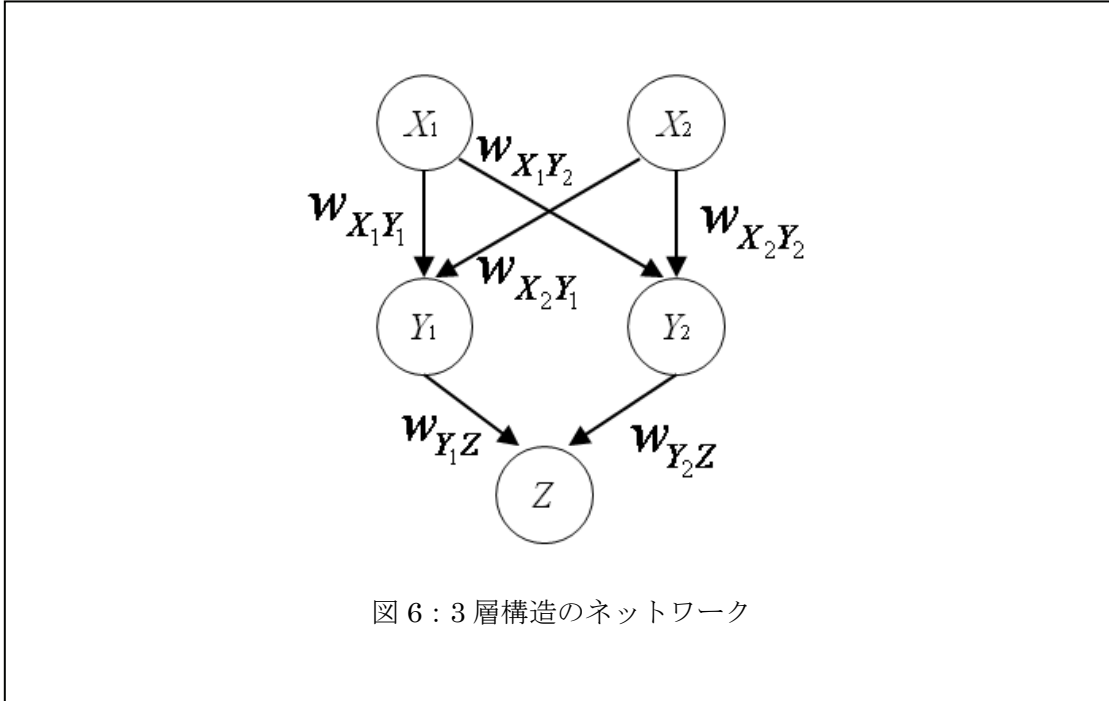
以降の問題では、図 5 に示す 0.1 刻みの目盛りのあるグラフを答案用紙に書いて答えなさい。

（問 2）重み $w_{X_1Y} = 0.7$, $w_{X_2Y} = 0.7$ のとき、 Y の出力が活性化される x_1 - x_2 平面上の活性化領域を図示せよ。また、この処理はどのような論理演算を可能にするかを答えよ。



（次のページに続く）

（問 3）重み $w_{X_1Y} = 2.0$, $w_{X_2Y} = 2.0$ のとき, Y の出力が活性化される x_1 - x_2 平面上の活性化領域を図示せよ. また, この処理はどのような論理演算を可能にするかを答えよ.



次に, 図 6 に示す 3 層構造のタンパク質キナーゼカスケードを考える. ノード Y_1, Y_2, Z の入出力関数は図 3 の f と同じである. このとき, Z の出力値 z は, 重み w_{Y_1Z}, w_{Y_2Z} と Y_1 , および, Y_2 からの出力値 y_1 , および, y_2 を用いて, $z = f(w_{Y_1Z}y_1 + w_{Y_2Z}y_2)$ と表される.

（問 4） $w_{X_1Y_1} = w_{X_2Y_2} = 0.7$, $w_{X_1Y_2} = w_{X_2Y_1} = 1.5$, $w_{Y_1Z} = w_{Y_2Z} = 2.0$ のとき, Z の出力が活性化される x_1 - x_2 平面上の活性化領域を図示せよ.

（問 5） $w_{X_1Y_1} = w_{X_2Y_2} = 0.7$, $w_{X_1Y_2} = w_{X_2Y_1} = 1.5$, $w_{Y_1Z} = w_{Y_2Z} = 0.6$ のとき, Z の出力が活性化される x_1 - x_2 平面上の活性化領域を図示せよ.

図 6 の中間層が, リン酸化酵素の代わりに, 脱リン酸化酵素を含んでいるとき, より複雑な処理が可能となる. この場合には, 脱リン酸化酵素はリン酸修飾を取り除くために, 便宜上, 負の重みをもつと考える.

（問 6） $w_{X_1Y_1} = 1.7$, $w_{X_2Y_2} = 0.7$, $w_{X_1Y_2} = 0.7$, $w_{X_2Y_1} = 1.7$, $w_{Y_1Z} = 2$, $w_{Y_2Z} = -3$ のとき, Z の出力が活性化される x_1 - x_2 平面上の活性化領域を図示せよ. また, この処理はどのような論理演算を可能にするかを答えよ.

（問 7）（問 6）のときに, シグナル伝達系は図 7 であった. リガンド A と B が各々のレセプターとどのような状態にあるとき, Z が活性化されるかを述べよ.

