

生物物理学Ⅰ試験 2004. 1. 29.実施 解答例

楠見担当

評価法

配点 各質問毎に、基本的に5点

ただし、問題1(4)は仕組みが2つあるので各5点

問題3はPDZ側と相手側とで各5点

全体で23問あることになるので、115点

それに加えて、ブリリアントなことが書いてあったり、感心することが書いてあったり、きれいな図が書いてあったりしたときの、裁量点が15点。そのほか、惜しい回答が続いていたら、後ろの方の問題で、点数が1-4点くらい、甘く付けてあったりするよ。

したがって、満点が、115点から130点の間にあります。だから、60点が返ってきたら、本当は正答率50%程度です。しかし、点数があまりに低いと悲しいと思うので、正答率での点数には換算していません。一応、100点満点だったと思って、素直に喜んでおいてください。

最終の成績(優、良、可、不可)の付け方

試験成績と、平常点を合わせた総成績でつけた

総合点 = 試験の点 x 2 + 平常点

(満点は、200点 + 140点 = 340点とした)

(平常点は3回の出席点、宿題の成績、ポートフォリオの成績の合計)

優：以下のどれかを満たしたとき

(1) 試験の成績が75点以上

(2) 総合点が255点(75%)以上

(3) 試験が65点以上 かつ 総合点が240点(71%)以上

良：以下のどれかを満たしたとき

(1) 試験の成績が50点以上

(2) 総合点が215点(63%)以上

(3) 試験が40点以上 かつ 総合点が190点(56%)以上

不可：試験の成績が45点以下 かつ 総合点が153点(45%)以下

可：上記以外

返した答案で、最初の数字が試験の点数、

2番目の数字が総合点

3番目のアルファベットが、事務に通知される成績で

A = 優、B = 良、C = 可、F = 不可

【問題 1】細胞膜上に発現している EGF 受容体のコピー数は、細胞によって大きく異なっている。

(1) 1細胞当たりの発現コピー数が、2万個の培養細胞 A と 200万個の培養細胞 B について、EGF 受容体分子間の平均距離を求めよ (nm の単位で回答のこと)。また、この平均距離から 3次元の濃度に換算したときの、モル濃度を答えよ。ただし、細胞は直方体 (タテ 2.5ミクロン、ヨコ 4.0ミクロン、とし、高さは無視できるとする) として近似し、受容体は単分子分散しているものとせよ。

上の面と下の面の両方あるから、片面には、1万個と100万個。これを、1000平方マイクロンで割ると、それぞれ、10、1000個/平方マイクロン。格子状に並んでいるとすると、1 μm (1000nm) の長さ中には、それぞれ、ルート 10、ルート 1000個の受容体がある。したがって、受容体間の距離は、320と32nm。

1cm は 1 ミクロンの 10,000 倍だから、1立方 cm (1ml) 中には、10,000 \times ルート 10 (またはルート 1000) の 3乗倍の受容体がある。モル濃度に直すには、この個数を 1000倍して 1リットル中の個数にし、それを、アボガドロ数で割ればよい。答えは、53nM と 53 μM 。

細かい数字が違ったりしているのは、減点なし。

(2) 細胞膜の分子が膜内を拡散係数 D ($\mu\text{m}^2/\text{s}$) でブラウン運動しているとすると、その分子が、ある時間 t 秒たったときに覆う面積 (μm^2) は

$$\langle x^2 \rangle = 4 D t$$

で与えられる (x は半径)。 (1) の 2種類の発現レベルの細胞があったとしたとき、受容体が衝突するまでの時間を、適当な仮定をおいて見積もりなさい。平均の拡散係数を、0.01 $\mu\text{m}^2/\text{s}$ とする。

両方とも動くから、2分子間の距離をそのまま使ったときには、拡散係数を2倍しなくてはいけない (これは難しいから、やっていなくても減点なし)。そのほか、本当は正しくやると、違うコンパートメントにいる分子の時は、ホップ拡散をして大きな範囲を動くときの拡散係数 (ここで書いてあるように、0.01平方マイクロン毎秒) 同じコンパートメントの中の時は、ホップする必要がないので、人工膜中と同じ速い拡散係数 (およそ、5平方マイクロン毎秒) を使わなくてはいけない。これは、(5) の問題とも関わるけれど、遅い拡散係数のまま考えても、コンパートメント内では衝突するまでの時間が非常に短いことはでてくるので、ここでは簡単のために、コンパートメントを越えて大きな範囲を動くときの拡散係数だけでやっている。

距離を、マイクロメートルに合わせて計算しないと、単位が合わなくなるよ。

$$(0.32 \text{ または } 0.032) \text{ の } 2 \text{ 乗} / 4 / (0.01 \times 2) = 1.3 \text{ 秒 または } 0.013 \text{ 秒}$$

(3) このように、EGF 受容体は細胞膜中を動き回っているあいだに、衝突して自己リン酸化を起こすことが推定される。しかし、実際には、シグナルは、EGF が細胞外からやってきて受容体に結合するまで、ほとんど出ない。どのようにしてシグナルが出るのを阻止しているか。考えられる機構を2つあげなさい。

(1) 衝突する程度の時間ではリン酸化反応が起こる確率が非常に低い程度にキナーゼ活性が弱い

(2) ホスファターゼが常に脱リン酸化反応をおこなっている

(4) リガンドの EGF は、動物体液中の通常濃度では単量体として振る舞う。このような濃度で EGF を添加すると、受容体のリン酸化が起こった。リン酸化が起こる仕組みについて、400字程度で説明せよ。

(1) EGF 受容体の細胞外ドメインが、EGF の結合に伴って構造変化し、2量体形成を誘導する。(2) 2量体が出来ると、長時間結合しているのので、弱いキナーゼ活性でも十分にリン酸化することが出来るので、受容体のリン酸化が起こる、の2つが書いてあればよい。

(5) この細胞の細胞膜は、平均の長さが 50nm の格子状のコンパートメントに仕切られているとする。EGF 添加後の受容体の挙動について、上記の細胞 A と B について、特徴を説明しなさい。膜がコンパートメントに分かれていることのシグナリングにおける利点は何だと考えられるか。作業仮説を2つ考え、そのような仮説が立てられる理由も述べなさい。

細胞 A では一つのコンパートメントに平均 1 個かそれ以上の受容体が存在するのに対し、細胞 B では、40 個のコンパートメントに 1 個程度の受容体しか存在しない。(2) の結果から考えると、それでも、EGF 受容体は 1 秒後には衝突するように思える。しかし、実際には、動物体内の EGF 濃度は低く、ほんのわずかの EGF 受容体にしか EGF は結合しないので、1%の受容体に EGF が結合すると考えると、それらが衝突するまでには、100 秒くらいかかる(密度が 1/100 になったら時間が 100 倍変わることは、(2) からわかるね)。もし、EGF の局所濃度が高いようなことが起こると、一つのコンパートメント中の 2 個の EGF 受容体に EGF が結合するような場合も生じ、衝突までの時間が非常に短くなる。このようなことの、1/3 くらいが書いてあればよい。

コンパートメントがある利点の作業仮説としては、衝突するまでの時間が制御できる、EGF 受容体が 2 量体などを作ると、膜骨格の網目中に閉じ込めが起こって、シグナルが来た位置の記憶が可能になる、ランダムな会合の可能性を減らす、など、回答の範囲で論理的であれば何でも良い。

(6) EGF が結合した EGF 受容体の一部は、きわめて早い時期に細胞内に取り込まれ、一方、EGF 添加後数分たって、今度は、EGF が結合していない EGF 受容体の取り込みが観察された。何故このような仕組みを細胞は(進化の途中で)発達させたと考えられるか? 作業仮説を、前者については2つ、後者については1つ考え、そのような仮説が立てられる理由も述べなさい。

速い取り込み:

シグナルを細胞内の特定の場所へ素早く送るため

間違ったシグナルなどがパラパラ来る可能性があるので、それらによるシグナリングを阻害するため

遅い取り込み

十分量のシグナルが細胞内にはいったあとも、シグナルが間違っ来続れたり、またそうすると細胞が強すぎる応答をする可能性があるので、細胞表面から、受容体をなくしてしまうという機構が働く可能性

これらは、作業仮説を尋ねているので、ロジカルに問題がなかったら何でも構わない(理由がしっかり書いてないといけない)

【問題2】「生体分子の立体構造は、多数の弱い結合によって形成されるところが大きな特徴である」とよく言われる。

(1) 弱い結合とはどのような相互作用によるものか、4つあげなさい。

水素結合、イオン結合、ファンデアワールス相互作用、疎水性相互作用

4つで5点、4つそろわないときは、各1点

分子間相互作用、というような回答が多かったが、ここではその中身を尋ねている

(2) 抗体の抗原への結合は、これらの弱い相互作用によるものである。F氏とN氏が抗体で細胞を染色する実験をしたとき、染色がうまくいかなかった。F氏は反応温度を上げを主張し、N氏は反応温度を下げることを主張した。そこで、他の条件は全く変えずに、温度だけをまずあげて実験したところ、染色が大いに改善された。悔しがったN氏は温度を下げ、なおかつ、ある条件を変更することにより、F氏の染色よりさらによい結果を得ることができた。N氏はどうやったのだろうか、推定してみなさい。また、改善された理由についても、反応速度と反応平衡により説明しなさい。

時間を延ばす。温度を上げるとよく結合したのは、反応が遅くて前の実験時間では抗体の結合が十分起こらなかったためであろう。時間をかけると、反応は起こる。しかも、温度を下げると、平衡が結合の方向へ向かうので、最終的に結合する抗体数は増加する。抗体の濃度を増やすという回答が多かったが、そうすると、F氏でも改善されるので、F氏を負かすことは出来ない。

(3) 多数の弱い結合で生体分子構造が出来ていることの、生理的意義について述べよ。

熱揺らぎとの競争のため構造が揺らぐ。それによって、基質や相互作用相手のタンパク質との結合が可能になるだけでなく、反応産物をはずしたりするのも必要

【問題3】 PDZ ドメインについて PDZ ドメインを持つタンパク質の例を挙げ、その構造と PDZ ドメインが結合する相手のドメインの特徴をまとめ、それをもつタンパク質の例を挙げなさい。

PDZ ドメイン自体について

アミノ酸が90個くらいの大きさ

膜裏打ちタンパク質に多い(これは、相手が膜貫通型タンパク質だから)。例えば、宿題にも出した InaD, 名前の由来となった PSD-95, DLG, ZO-1

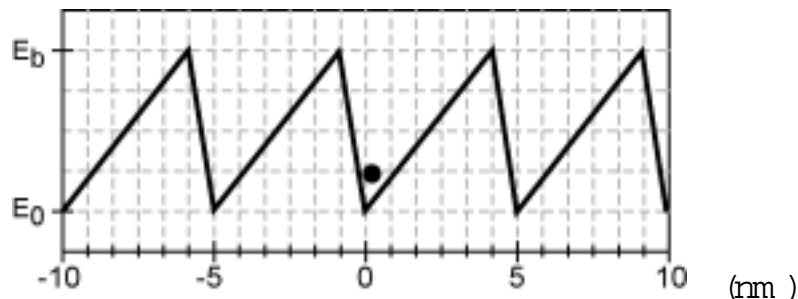
結合相手について

膜貫通型タンパク質のC末端3残基が、S/T-X-V/I/L モチーフ(Class I) ϕ -X- ϕ (ϕ は疎水性アミノ酸) モチーフ(Class II) であるものに結合する。

例としては、NMDA 型グルタミン酸受容体、ニューロリジン、など。

【問題4】

(1) You have a molecule inside of an energy profile as shown below.



It randomly takes 1 nm steps to either side. The probability of taking a step depends on the energy difference before (E_i) and after (E_f) the step through $\exp(-(E_f - E_i)/k_B T)$ where $k_B T$ is the thermal energy. Show that the molecule has an equal probability to go left or right and thus can go now here using random motion.

動きやすさは、エネルギーで決まるので、エネルギーポテンシャルの傾きが変わっても、どちらに動きやすいということにはならない(一つの谷間のなかでは、平均位置は、一番低いところより少し右による)。

B) Explain the effect on the energy profile and the motion of the molecule if a force is applied to the molecule from one direction.

力が加わると、確率的に力のかかっているむきに動きやすくなる。それは、力がかかる方向へとポテンシャルが下がっていく(たとえば、 $F \cdot x$ に比例して)と考えてもよい。そうすると、確率の式は $E_f - E_i$ を $E_f - E_i - (F \cdot x)$ に置き換えた式になる。