

2008 年度

I 種酵素取扱者資格試験問題

2008 年 8 月 23 日 (土) 10:00~12:00

- 問題は、7 題あります。全ての問題について解答用紙に解答してください。
- 問題冊子はお持ち帰りください。
- 300 点満点として 240 点以上を合格とする。

日本生物高分子学会

□ 問題 1. 次の問いに答えよ

(1) 遷移状態（活性化中間体）の考えかたで酵素の触媒機構を

ΔG^\ddagger と反応速度（定数）との関係づけて論じなさい

(2) 次の説明に最も近い用語を記せ

- 1) 酵素に固有の反応に直接関与するアミノ酸残基
- 2) 酵素が本来の機能を実行する酵素分子内の場所
- 3) 上記2) の場所以外の場所にもう一つ機能に関与する領域をもつ酵素もある.
この領域を何と云うか
- 4) 化学試薬を用いて酵素の機能に関与するアミノ酸残基を探索する手法

□ 問題 2. 基質溶液に酵素を加えて、酵素反応を開始した。酵素反応は次のような反応式で表されるとする。



(1) 酵素 - 基質複合体 (ES) の濃度は時間 t とともにどのように変化するか。基質の初濃度 $[S]_0$ が酵素初濃度 $[E]_0$ に比べてきわめて高いときについて、ES の濃度の時間変化をグラフに描け。



(2) 定常状態 (steady state) とはどのような状態か。(1) で描いたグラフを用いて説明せよ。

(3) 定常状態と遷移相の速度論を比較した以下の表の長所と短所の欄を埋めよ。

| | 定常状態速度論 | 遷移相速度論 |
|--------|---|--|
| 観測する変化 | 基質から生成物質への転換(全反応) | 酵素の状態変化、またはこれを反映する何らかの変化(素過程) |
| 観測手法 | 制限なし | ストップフローなど高速反応法 |
| 時間域 | min~hr | $\mu\text{s}\sim\text{s}$ |
| 酵素濃度 | $10^{-10}\sim 10^{-5}\text{M}$ (通常 $10^{-9}\sim 10^{-6}\text{M}$) | $10^{-7}\sim 10^{-3}\text{M}$ (通常 $10^{-6}\sim 10^{-4}\text{M}$) |
| 長所 | | |
| 短所 | | |

□ 問題 3. 次の問に答えよ。

(1) 実験によって、酵素反応速度を求めようとするとき、多くの場合、反応に関わる物質の時間に対する濃度変化が直線と見なすことができるような反応条件を設定する。このような反応条件を設定する理由を述べよ。

(2) ある酵素の反応速度論量を求めるために、酵素の濃度を 0.002 mM にして測定したところ、 $K_m = 5\text{ mM}$, $V_{\text{max}} = 0.1\text{ mM/min}$ という値が得られた。もし、酵素濃度を 0.006 mM にして測定すると、 K_m および V_{max} はどのような値になると予想されるか。

□ 問題 4. 次の問に答えよ.

(1) 酵素（蛋白質）の静的な構造と動的な構造の研究手法をそれぞれ1つ挙げよ。

(2) ミオグロビンの塩酸グアニジンによる変性は2状態変性であることが知られている。ヘムの吸収ピークは未変性状態では 412 nm に観察されるが、変性状態では見えなくなる。この波長でシトクローム C の塩酸グアニジン変性を観察した場合に見られる吸光度変化の概略図を示し、その変化を表す式を導け。

□ 問題 5. 次の問に答えなさい。

(1) HPLC の分配モードで重要な「順相」と「逆相」の定義について、下記の用語から選択して文章を埋めなさい。

順相モードとは、固定相の極性が移動相のそれよりも a. () 場合をいい、
逆相モードとは、固定相の極性が移動相のそれよりも b. () 場合をいう。

用語： 高い, 低い

(2) 逆相分離用の ODS カラムを用いて分離を改善したいときに検討すべき方法を以下からすべて選びなさい。

- 1) カラムの内径を細くする
- 2) カラムの長さを長くする
- 3) 固定相の種類を C8 や Phenyl などに替えてみる
- 4) 流量を上げてみる
- 5) 移動相組成（溶媒濃度, pH など）を変化させてみる
- 6) 充てん剤粒子の小さなカラムに取り替えてみる
- 7) 注入量を増やしてみる

□ 問題 6. 酵素の翻訳後修飾について例を挙げて説明しなさい。生体内での役割にもふれること。

□ 問題 7. 次の問に答えなさい。

(1) 酵素の起源には、植物、動物の臓器、微生物等があるが、産業用に利用される酵素の多くは、微生物を用いた発酵により製造されている。その理由を簡単に説明せよ。

(2) 酵素の有効利用の一つに酵素の固定化がある。固定化酵素の利点を簡単に説明せよ。