

〔Ⅱ〕 タンパク質は、多数のアミノ酸が縮合してできている。1つのアミノ酸のアミノ基(-NH₂)と別のアミノ酸のカルボキシル基(-COOH)との間で水分子が1つとれて生じる-CO-NH-結合を 結合という。多数のアミノ酸が 結合によりつながった分子を という。 鎖の分子中に水素結合ができ、らせん状になった構造を という。また、複数の 鎖が平行に並び、となりどうしで水素結合してびょうぶ状に折れ曲がった構造を という。酵素はタンパク質でできおり、体内で起こる物質の合成・分解の化学反応において重要な役割を果たしている。たとえば、過酸化水素に という酵素を作用させると、過酸化水素が水と酸素に分解される。このとき、添加した 自身は変化しない。このように自身は変化せずに、特定の化学反応を促進する物質を触媒という。酵素は触媒作用をもち、酵素が作用する物質を基質という。酵素が特定の基質にしか作用しない性質のことを という。

シトクロム P450 2C19 (CYP2C19)は、主に肝細胞の小胞体に存在する酵素で、薬物の代謝に関与している。たとえば、一部の消化性潰瘍治療薬を酸化して、薬物活性のない構造に代謝する反応を触媒する。CYP2C19タンパク質をコードする遺伝子(CYP2C19)は、第10番染色体に位置し9個のエキソンが存在する。日本人集団では、酵素活性を有するCYP2C19の遺伝子(CYP2C19*1)の他に、一塩基多型を有する対立遺伝子(CYP2C19*2およびCYP2C19*3)の3種類が存在する。CYP2C19*2およびCYP2C19*3由来のCYP2C19変異タンパク質は酵素活性を持たない。したがって、CYP2C19*2/CYP2C19*2、CYP2C19*3/CYP2C19*3およびCYP2C19*2/CYP2C19*3の遺伝子型のヒトでは消化性潰瘍治療薬が分解されにくいため、CYP2C19*1/CYP2C19*1の遺伝子型のヒトよりも薬の効果が得られやすい。

問(5) ~ に適切な語句を入れよ。

問(6) 日本人集団における *CYP2C19* の対立遺伝子頻度(括弧内の数値)がそれぞれ, *CYP2C19*1*(0.6), *CYP2C19*2*(0.3), *CYP2C19*3*(0.1)であることがわかった。500 人中の各遺伝子型(表1)(C)~(H)の推定人数をそれぞれ求めよ。ただし, ハーディー・ワインベルグの法則が成り立つと仮定する。

表1

	遺伝子型
(C)	<i>CYP2C19*1/CYP2C19*1</i>
(D)	<i>CYP2C19*1/CYP2C19*2</i>
(E)	<i>CYP2C19*1/CYP2C19*3</i>
(F)	<i>CYP2C19*2/CYP2C19*2</i>
(G)	<i>CYP2C19*2/CYP2C19*3</i>
(H)	<i>CYP2C19*3/CYP2C19*3</i>

問(7) 下線部(d)について、被験者の白血球からゲノム DNA を抽出し、*CYP2C19* の遺伝子型を調べた。図 2 は *CYP2C19*1* の塩基配列の一部であるが、*CYP2C19*2* は、この塩基配列中の 119 番目のグアニンがアデニンに置換されている。図 2 に示す DNA 配列全長(168 塩基対)を PCR 法によって増幅し、PCR 産物を制限酵素で処理した。

- (i) *CYP2C19*2* の存在を調べるために適切な制限酵素はどれか。図 3 の選択肢①～⑤の中から 1 つ選び、番号を記せ。
- (ii) 被験者の遺伝子型が *CYP2C19*1/CYP2C19*2* のヘテロ接合体であった場合、PCR 産物を(i)で選択した制限酵素で処理した後の DNA 断片は、ゲル電気泳動で何本検出されるかを記せ。ただし、制限酵素はその認識する DNA 配列をすべて完全に切断することとする。

10	20	30	40	50
5'- AATTACAACC	AGAGCTTGGC	ATATTGTATC	TATACCTTTA	TTAAATGCTT
3'- TTAATGTTGG	TCTCGAACCG	TATAACATAG	ATATGGAAAT	AATTTACGAA
60	70	80	90	100
TTAATTTAAT	AAATTATTGT	TTTCTCTTAG	ATATGCAATA	ATTTTCCCAC
AATTAATAA	TTTAATAACA	AAAGAGAATC	TATACGTTAT	TAAAAGGGTG
110	120	130	140	150
TATCATTGAT	TATTTCCCGG	GAACCCATAA	CAAATTACTT	AAAAACCTTG
ATAGTAACTA	ATAAAGGGCC	CTTGGGTATT	GTTTAATGAA	TTTTTGGAAC
160	168			
CTTTTATGGA	AAGTGATA -3'			
GAAAATACCT	TTCACTAT -5'			

A(アデニン), T(チミン), G(グアニン), C(シトシン)

図 2


制限酵素	認識される塩基配列
① <i>Apa</i> I	$ \begin{array}{l} 5'-\text{GGGCC} C-3' \\ 3'-C \text{CCGGG}-5' \end{array} $
② <i>Bam</i> HI	$ \begin{array}{l} 5'-G \text{GATCC}-3' \\ 3'-\text{CCTAG} G-5' \end{array} $
③ <i>Bln</i> I	$ \begin{array}{l} 5'-C \text{CTAGG}-3' \\ 3'-\text{GGATC} C-5' \end{array} $
④ <i>Stu</i> I	$ \begin{array}{l} 5'-\text{AGG} CCT-3' \\ 3'-\text{TCC} GGA-5' \end{array} $
⑤ <i>Sma</i> I	$ \begin{array}{l} 5'-\text{CCC} GGG-3' \\ 3'-\text{GGG} CCC-5' \end{array} $
	 切断面

図 3

問(8) CYP2C19*1 に由来する CYP2C19 タンパク質を人工的に合成し、水素イオン指数 (pH) 7.4, 37 °C の条件下で CYP2C19 タンパク質の酵素濃度を一定に保ち、基質濃度を変化させて試験管内で反応速度を測定したところ、図4のようになった。曲線上の黒丸●は、各基質濃度を反応させたときの反応速度をプロットしたものである。次に、この曲線をもとに、横軸に基質濃度の逆数 ($1/\text{基質濃度}$)、縦軸に反応速度の逆数 ($1/\text{反応速度}$) をプロットすると、図5のような直線になった。ただし、縦軸と直線の交点は最大反応速度の逆数 ($1/\text{最大反応速度}$) とする。試験管内に CYP2C19 タンパク質の基質薬物と同時に、ある競争的阻害物質を一定量加えた場合、図5の直線は阻害物質がない場合と比較してどのように変化するか、図6の①~⑥から最も適切なものを1つ選び、番号を記せ。

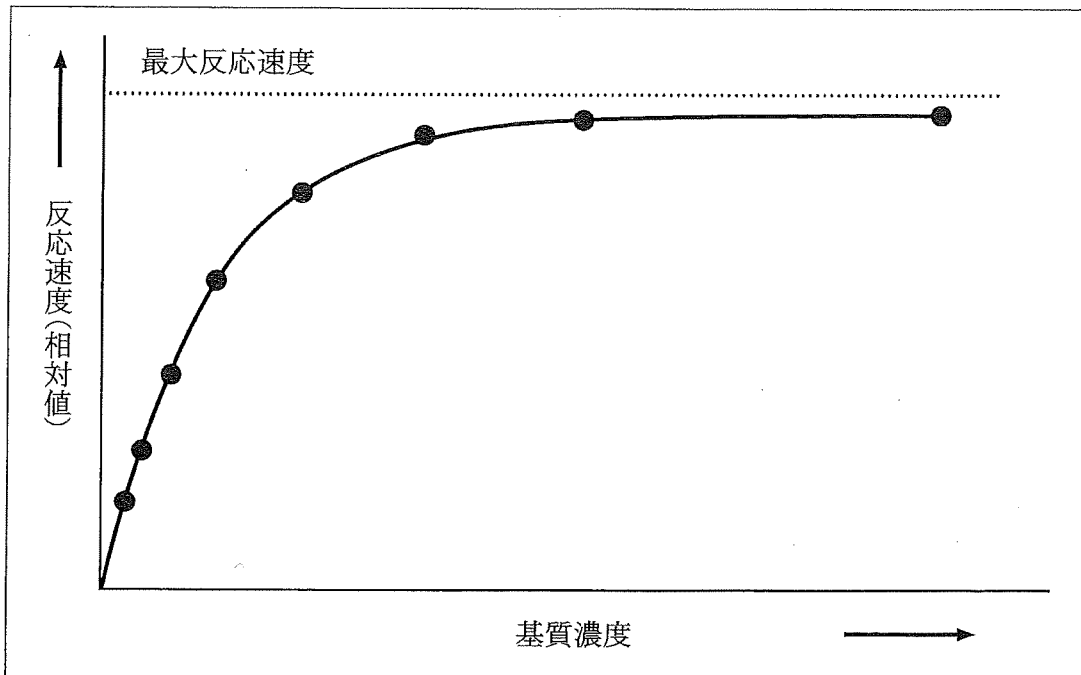


図4

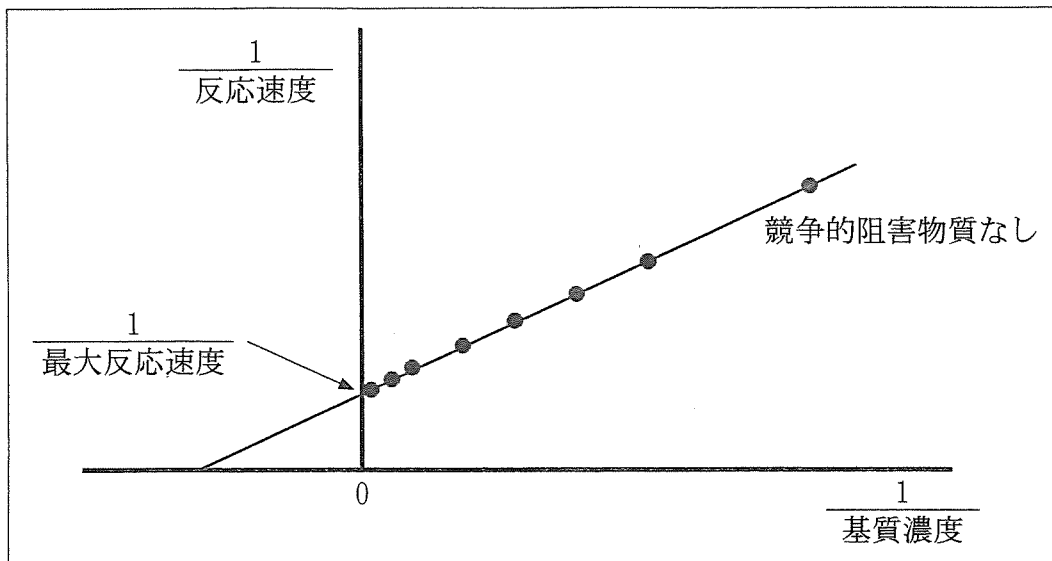


図 5

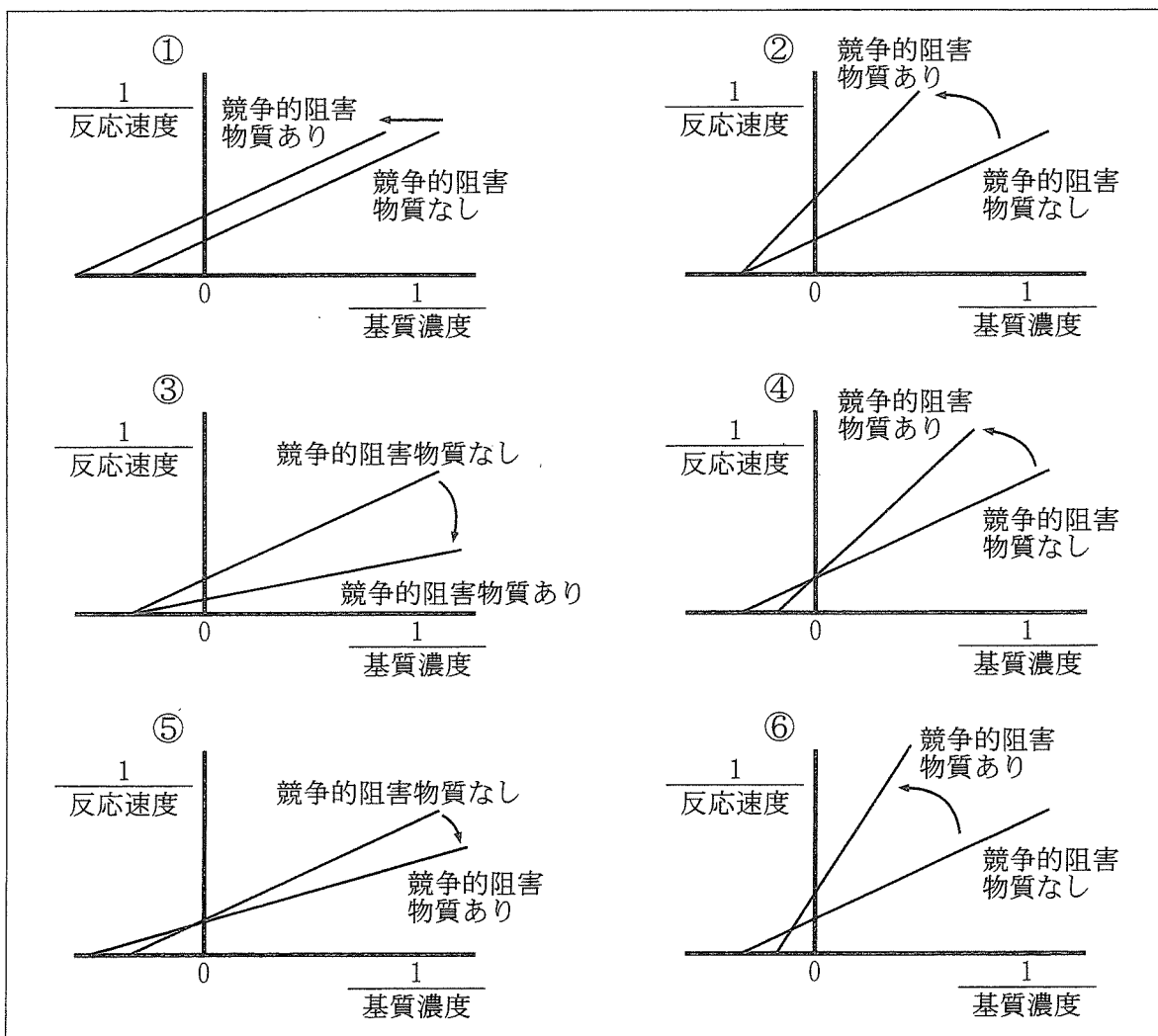


図 6