

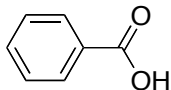


表3-2 DNAにコードされているアミノ酸

分類	アミノ酸の名称 略号(一文字略号)	構造式	等電点	
◎非極性アミノ酸 ・中性アミノ酸	グリシン Gly (G)	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	5.97	
	アラニン Ala (A)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	6.02	
	バリン Val (V)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \quad / \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	5.96	
	ロイシン Leu (L)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \quad / \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	5.98	
	イソロイシン Ile (I)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	6.02	
	メチオニン Met (M)	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	5.74	
	フェニルアラニン Phe (F)	芳香族 $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	5.48	
	トリプトファン Trp (W)	芳香族 $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	5.89	
	プロリン Pro (P)	$\text{C}_5\text{H}_9\text{N}-\text{CH}-\text{COOH}$ NH	6.30	
	◎極性アミノ酸 ・中性アミノ酸	セリン Ser (S)	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	5.68
		トレオニン Thr (T)	$\begin{array}{c} \text{HO} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	5.60
		チロシン Tyr (Y)	芳香族 $\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	5.66
		システイン Cys (C)	$\text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	5.07
アスパラギン Asn (N)		$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{O} \quad \\ \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	5.41	
グルタミン Gln (Q)		$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{O} \quad \\ \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	5.65	
・酸性アミノ酸		アスパラギン酸 Asp (D)	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{O} \quad \\ \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.98
		グルタミン酸 Glu (E)	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{O} \quad \\ \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	3.22
・塩基性アミノ酸		アルギニン Arg (R)	$\begin{array}{c} \text{HN} \\ // \\ \text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	10.8
		リシン Lys (K)	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	9.74
	ヒスチジン His (H)	芳香族 $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ NH ₂	7.59	

練習問題

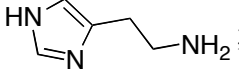

1. 以下の問いに答えなさい。

- (1) 安息香酸 ( = PhCO₂H, pK_a = 4.21) は以下の各 pH において、分子型 (PhCO₂H) の濃度 [PhCO₂H] は、イオン型 (PhCO₂⁻) の濃度 [PhCO₂⁻] の何倍存在するか答えなさい。計算過程も書くこと。

pH 4.21

pH 6.21

pH 3.21

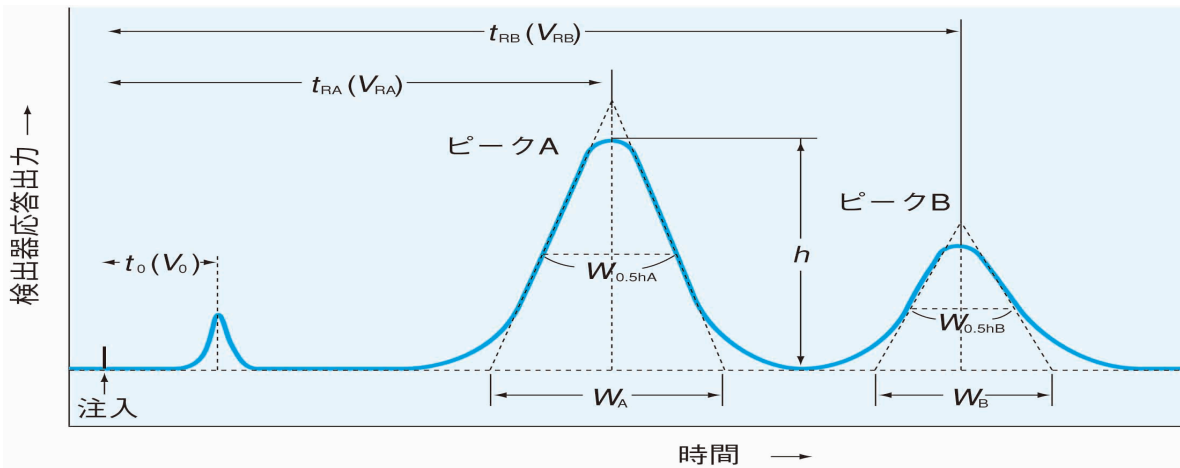
- (2) 安息香酸を pH 6.21 の時に結合するのは「陰イオン交換樹脂」と「陽イオン交換樹脂」のいずれであるか答えなさい。
- (3) (2)の答えの化学的な理由を下記の用語を使用して答えなさい。
用語：負電荷、正電荷、pK_a、pH 6.21
- (4) (2)の条件でイオン交換クロマトグラフィーの固定相に結合した安息香酸を固定相から溶出するための方法を2つ答えよ。
- (5) pH 6.21 の溶液中の安息香酸と結合可能なクロマトグラフィーの官能基を下記の選択肢から選びなさい (複数回答可)。
- a) -SO₃H b) -Si-OH c) -CO₂H d) -N(CH₂CH₃)₂
e) -(CH₂)₁₇CH₃ f) [-N(CH₃)₃]⁺(OH⁻)
- (6) pK_a が 8 の化合物は、pH 6 では正負のいずれに電荷が偏っているか。
- (7) pH 6 の緩衝液を移動相とした時、pK_a が 8 の化合物は陰イオン交換樹脂/陽イオン交換樹脂のいずれに吸着するか。
- (8) pH 8 の緩衝液を移動相とした時、pK_a が 6 の化合物は陰イオン交換樹脂/陽イオン交換樹脂のいずれに吸着するか。
- (9) ヒスタミン (; pK_a=9.75 (-NH₂), pK_a=6.04 (imidazole = )) について、pH 7.0 の溶液中でイオン交換クロマトグラフィーを行う場合、ヒスタミンが結合できるのは「陽イオン交換樹脂」か「陰イオン交換樹脂」かを答えよ。
- (10) -CO₂H をイオン交換基に持つ樹脂がイオン交換能を持つことができる pH の条件を答えよ。-CO₂H の pK_a はおよそ 4.5 である。
- (11) DNA や RNA 等の核酸の分離に適しているのは陰イオン交換樹脂か、それとも、陽イオン交換樹脂かを答えなさい。(ヒント：核酸の構造を調べる)
- (12) サイズ排除クロマトグラフィー (ゲルろ過クロマトグラフィー) では、分子量の大きな蛋白質と小さな蛋白質ではどちらが早くカラムから出てくるか。
- (13) (12)で答えた順番でカラムから出てくる理由を下記の用語を使用して説明しなさい。
用語：多孔質、クロマトグラフィー担体、くぼみ、小分子、大分子

2. 以下の化合物のクロマトグラフィーに関する以下の問いに答えなさい。

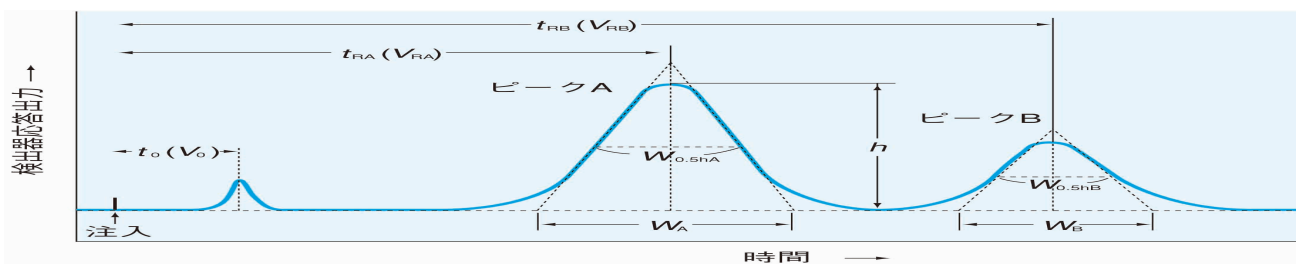


- (1) シリカゲルの化学構造について説明しなさい。
- (2) シリカゲルを用いたクロマトグラフィーで溶離溶媒として酢酸エチルから始め、次第にメタノールの量をステップワイズ（段階的に）に多くしていき、最後にはメタノールのみにした。このとき、上記の3化合物がどのような順序で溶出されるか。その理由を述べよ。
- (3) 溶媒組成を変化させて化合物の溶出をさせる方法を何と呼ぶか。
- (4) シリカゲルを固定相に用いたクロマトグラフィーの分離メカニズム上の分類名を答えなさい。
- (5) シリカゲルを用いたクロマトグラフィーのような溶出順となるクロマトグラフィーを何と呼ぶか答えなさい。
- (6) (5)の分類に属するクロマトグラフィーに用いられる固定相の以下から選びなさい。
a) ポリエチレングリコール(PEG) b) オクタデシルシリル基 c) アルミナ d) セファデックス e) ケイソウ土 f) アミノプロピル基
- (7) (6)で答えた化合物の化学構造式を書きなさい。
- (8) (6)で答えた固定相を有したクロマトグラフィーの分離メカニズム上の分類名を答えなさい。
- (9) シリカゲルの組成式を書きなさい。
- (10) シリカゲルと組成が全く同じ物質と、シリカゲルの組成式で表される化合物を主成分とする物質を以下からそれぞれ選びなさい。
a) ポリスチレン b) 窓ガラスのガラス c) ケイソウ土 d) 石英 e) 熔融石英
f) 水ガラス g) ヤタガラス h) オクタデシルシラン i) 石綿 j) セルロース
k) フューズドシリカ (fused silica) m) グルコース n) 石英ガラス
- (11) シリカゲルを用いたクロマトグラフィーとは化合物の溶出順が逆になるように設計されたクロマトグラフィーの充填剤の名前を答えなさい。
- (12) (11)の充填剤の「分離メカニズム」を答えなさい。
- (13) (11)の固定相は液相、気相、固相のいずれであるか答えなさい。
- (14) (11)の固定相として機能する官能基の化学構造を骨格構造式で書きなさい。
- (15) (11)の充填剤で、上述の化合物（エストジオール、エストロン、エストラジオール）の溶出順がどのようになると予想されるか答えなさい。
- (16) シリカゲルおよび(11)の充填剤を用いたクロマトグラフィーの移動相の種類による分類名を答えなさい。
- (17) (11)の充填剤を用いたクロマトグラフィーの「溶出順による分類名」を答えなさい。

3. 下記のクロマトグラムに関する問いに答えなさい。 t_{RA} , t_{RB} の単位は分 (min) とする。



- (1) 質量分布比 (保持比) k の定義式を書きなさい。(ヒント:クロマトグラムの保持時間 (t_{RA} , t_{RB}) を含まない式)
- (2) ピーク A の化合物の質量分布比 (保持比) k をクロマトグラムの保持時間を含む形の式として表しなさい。保持時間等の変数は上図に記載されたものを使うこと。
- (3) (1)の定義式に基づいて、 k が大きくなると化合物の保持時間が長くなることを説明しなさい。ただし、流速は変えないまま、 k のみが変わるものとする。
- (4) (2)の式に基づいて、 k が大きくなると化合物の保持時間が長くなることを証明しなさい。
- (5) ピーク A とピーク B の分離度 R_s を式で表しなさい。
- (6) ピーク A の化合物の保持容量 V_{RA} を求めなさい。移動相の流速を 2 mL/min とする
- (7) 理論段数 N の定義式を書きなさい。なお次の変数のうち必要な変数を用いて理論段数 N を表すこと。化合物のピークの半値幅: $W_{0.5h}$; 化合物の保持時間: t_R ; 化合物のピーク高さ: h ; 固定相 (カラム) に保持されない化合物の保持時間: t_0
- (8) (7)の定義式に基づいて、理論段数が大きくなるとピーク同士の分離能が上がることを証明しなさい。なおカラムの充填剤は同一で、理論段数の違いは充填の出来不出来に起因していることとする。
- (9) 上図のクロマトグラムを与えるカラムの理論段数が 80 であった時、理論段数が 320 になった場合のクロマトグラムを下記のクロマトグラムに重ねて書きなさい。ただし、各ピークの保持時間は変化しないものとし、同量の化合物をカラムに注入することとする。



- (10) カラムの理論段数が 80 でカラム長が 150 mm であった時、理論段高さ H を求めなさい。

4. 蛋白質の分離に関する以下の問いに答えなさい。
- (1) 蛋白質の分離に用いる電気泳動用ゲルは何か答えなさい。
 - (2) SDS-PAGE で使用される SDS は何の略語であるか答えなさい。
 - (3) SDS の化学構造式を書きなさい。
 - (4) (2)において SDS を用いる理由を答えなさい。
 - (5) SDS-PAGE では蛋白質は陽極／陰極のいずれの電極に向かって泳動されるか。
 - (6) SDS-PAGE では分子量の大きな蛋白質と小さな蛋白質ではどちらが早く泳動されるか。
 - (7) サイズ排除クロマトグラフィー（ゲルろ過クロマトグラフィー）では、分子量の大きな蛋白質と小さな蛋白質ではどちらが早くカラムから出てくるか。
 - (8) 等電点 (pI) が 8 の蛋白質は、pH 6 では正負のいずれに電荷が偏っているか。
 - (9) pH 6 の緩衝液を移動相とした時、等電点 (pI) が 8 の蛋白質は陰イオン交換カラム／陽イオン交換カラムのいずれのカラムに吸着するか。
 - (10) pH 8 の緩衝液を移動相とした時、等電点 (pI) が 6 の蛋白質は陰イオン交換カラム／陽イオン交換カラムのいずれのカラムに吸着するか。
 - (11) (10)の蛋白質をイオン交換カラムから溶出するための方法を 2 つ答えよ。
 - (12) 核酸の分離に用いるゲルは何か答えなさい。
 - (13) 数百塩基対から数千塩基対の核酸を泳動するのに適したゲルは何か。
 - (14) そのゲルは、ペプチド／アクリルアミド重合体／多糖類／蛋白質／セファデックスのいずれの化合物に分類されるか。
 - (15) (12)のゲルで核酸は陽極／陰極のいずれの電極に向かって泳動されるか。
 - (16) 液体クロマトグラフィーで核酸を検出するのに適した検出器は何か。
 - (17) 芳香族アミノ酸を含まない蛋白質の検出が可能な検出器を列挙しなさい。
5. キャピラリー電気泳動に関する以下の問いに答えなさい。
- (1) キャピラリー電気泳動で、キャピラリー中に電解質溶液のみで満たされている電気泳動法を何と呼ぶか。
 - (2) (1)のキャピラリー電気泳動で、移動相の流れを何と呼ぶか。
 - (3) (1)の流れは陽極／陰極のいずれの方向に流れるか。
 - (4) (3)の流れの方向が(3)の答の方向に流れる理由を説明しなさい。流れができる要因となる現象の名前を用いて説明すること。
 - (5) キャピラリー電気泳動では、陰イオン、陽イオン、中性物質はそれぞれ、陽極側／陰極側のいずれの方向に流れるか答えなさい。
 - (6) キャピラリー電気泳動の応用例を一つ挙げなさい。
 - (7) キャピラリーの素材は何であるか名前を答えなさい。またその組成式も答えること。
 - (8) キャピラリーの補強のためのポリイミドによるコーティングはキャピラリーの内面／外面のいずれに施されているか。
 - (9) キャピラリー電気泳動の検出器を 2 つ挙げなさい。

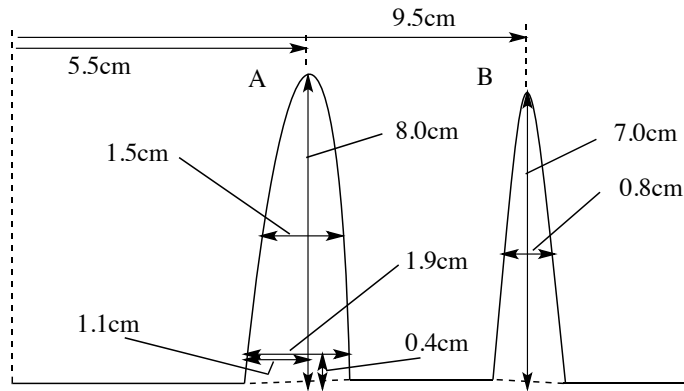
6. ガスクロマトグラフィーに関する次の問いに答えなさい。

ある未知試料中に含まれる化合物 X の含量を求めるために、2 種類の、標準溶液 A (X の濃度 100 mg/mL, Z の濃度 50 mg/mL)、B (X の濃度 50 mg/mL, Z の濃度 50 mg/mL) および X 濃度未知試料 (X の濃度? mg/mL, Z の濃度 50 mg/mL) とともに、同一条件下でガスクロマトグラフィーによる分析を行った。チャート紙の速度は 2 cm/min とした。以下は得られた測定データである。キャリアガスには窒素を用いた。

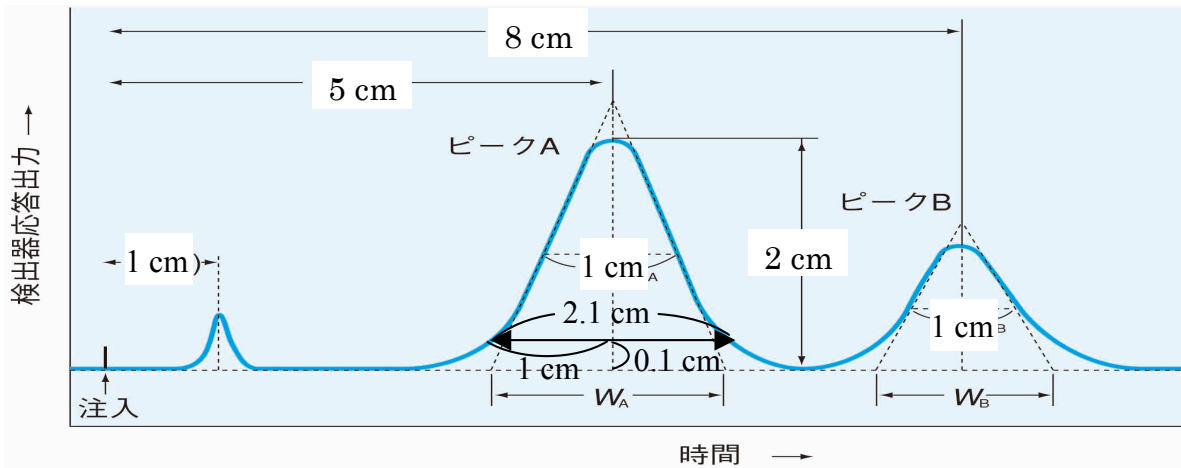
	標準溶液 A		標準溶液 B		X 濃度未知溶液	
	化合物 X	化合物 Z	化合物 X	化合物 Z	化合物 X	化合物 Z
開始点からの距離	80.0 mm	40.0 mm	80.0 mm	40.0 mm	80.0 mm	40.0 mm
ピーク高さ	105.0 mm	210.0 mm	48.0 mm	192.0 mm	60.0 mm	200.0 mm
ピーク半値幅	4.0 mm	2.0 mm	4.0 mm	2.0 mm	4.0 mm	2.0 mm
保持時間	min	min	min	min	min	min
ピーク面積	X	Z	X	Z	X	Z
	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
面積比 (X/Z)						

- (1) 化学成分 X の保持時間 (小数第 2 位まで) および各ピーク面積 (小数第 1 位まで)、化合物 X と化合物 Z の面積比 (小数第 2 位まで) を求めよ。 *解答欄は上の表の中
- (2) 含量とピーク面積の関係を表す検量線を右に作成せよ。 *適切な目盛りを記すこと。
- (3) 検量線から未知試料中の化学成分 X の含量を求めよ (小数第 1 位まで)。適切な単位も示すこと。
- (4) ガスクロマトグラフィーのカラム内の充填剤として、ケイソウ土にポリエチレングリコールをコーティングしたものをを用いた。この時、移動相と固定相は何であるか答えなさい。
- (5) (4)の時、移動相、固定相はそれぞれ、固体/液体/気体のいずれであるか答えなさい。
- (6) 実習で使用したクロマトグラフィーを分離メカニズムによって分類した場合、本実習で使用したクロマトグラフィーは何に分類されるか答えなさい。なお、固定相と移動相の関係による分類ではない点に注意すること。
- (7) 化合物 Z のような全ての溶液に同じ濃度で含有されている化合物を何と呼ぶか。
- (8) 次に示すのはガスクロマトグラフ装置を構成する各部の名称である。正しい順序に並べよ。
 - a. 記録計 b. 検出器 c. 試料注入口 d. キャリヤーガスボンベ e. カラム

7. 次のピーク A, B の分離度、ピーク A のシンメトリー係数・保持時間 t_{RA} を求めなさい。記録用紙の移動速度は 5 mm/min とする。



8. 下記のオクタデシルシリル化シリカゲルが充填されたカラムのクロマトグラムに関する問いに答えなさい。なおチャートスピードは 1 cm/min で、移動相の流速は 2 mL/min である。計算過程を書く欄がある問題では、定義式を書いて、その後の計算過程も書くこと。



- (1) オクタデシルシリル化シリカゲルの化学構造について説明しなさい。
- (2) オクタデシルシリル化シリカゲルの分離メカニズムに基づく分類名を答えなさい。
- (3) オクタデシルシリル化シリカゲルの溶出順による分類名を答えなさい。
- (4) ピーク A の保持時間を計算しなさい。計算過程も書くこと。
- (5) ピーク A の化合物の保持容量を求めなさい。計算過程も書くこと。
- (6) ピーク A とピーク B の分離度を計算しなさい。分離度の定義式中の比例定数は 1.18 を用いること。計算過程も書くこと。
- (7) ピーク A の化合物の質量分布比 (保持比) k を求めなさい。計算過程も書くこと。
- (8) ピーク A の化合物では、固定相に存在する量は移動相に存在する量の何倍か答えなさい。
- (9) ピーク A のシンメトリー係数を求めなさい。

9. 以下に示すクロマトグラフィー用の検出器が使用可能なクロマトグラフィーと化合物の組合せを答えなさい。なお各検出器に対応するクロマトグラフィーおよび化合物は一つとは限らない点に注意すること。

[検出器]

熱伝導度検出器、紫外可視吸光光度検出器、示差屈折計、電子捕獲検出器、炎光光度検出器、蛍光検出器、電気化学検出器、アルカリ熱イオン化検出器、質量分析器、水素炎イオン化検出器

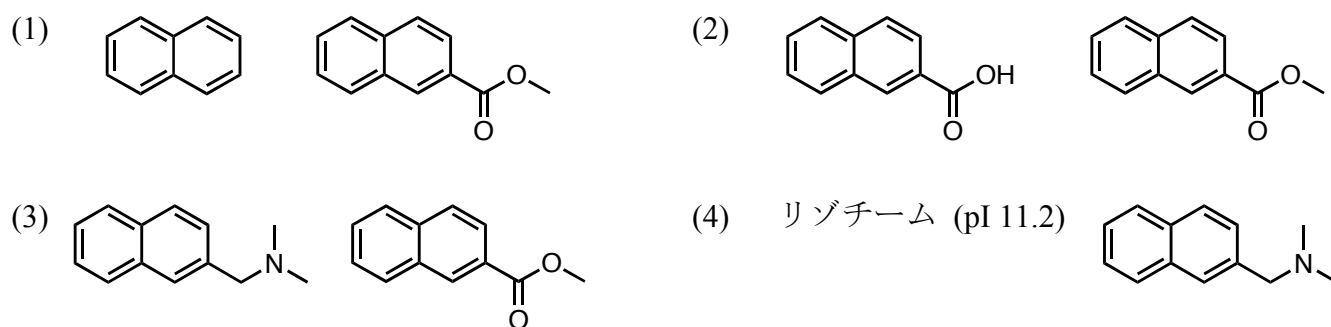
[クロマトグラフィー]

液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動

[化合物]

芳香族化合物、有機ハロゲン化合物、含窒素化合物、含リン化合物、含イオウ化合物、糖類、ニトロ化合物

10. 以下の組合せの化合物の分離に適したクロマトグラフィーを答えなさい（複数回答可）。



11. 以下の化合物の混合物をクロマトグラフィーを用いて各化合物に分離したい。分離の手順を考えなさい（クロマトグラフィーを複数用いてよい。手順には何通りかの可能性があります）。

