

問題番号〔4〕＜分子遺伝学＞

mRNA の翻訳に関する以下の文章を読み、設問に答えなさい。（計 50 点）

無細胞翻訳系はタンパク質を試験管内で合成可能な系で、大腸菌、ウサギ網状赤血球、コムギ胚芽などから作成できる。これらの抽出液は翻訳に必要なタンパク質やリボソーム等を含んでおり、材料となる 20 種類のアミノ酸や鋳型 RNA などの添加によって任意のタンパク質を合成可能である。ウサギ網状赤血球抽出液（RRL）でヒト遺伝子 A の産物を翻訳するため、精製した RNA polymerase を用いた試験管内転写により以下の構造の人工 RNA を作製し、鋳型 RNA として用いた。遺伝子 A の開始コドン上流-10 塩基から、終止コドン下流+100 塩基までは cDNA 由来の配列である。IRES (internal ribosome entry site) はウイルス由来の配列で、リボソーム結合部位として機能する。



- (1) 図の人工 RNA を使うとタンパク質 A が効率よく翻訳されたが、IRES 領域を除いた RNA を使うと翻訳量が大きく低下した。一方、ヒト細胞から遺伝子 A に由来する内在性 mRNA を精製し RRL に加えると、IRES を持たないにもかかわらずタンパク質 A が効率よく翻訳された。内在性 mRNA の翻訳に IRES が不要な理由を簡潔に説明しなさい。（12 点）
- (2) RRL に ^{35}S -メチオニンを加えると、翻訳時にこれが取り込まれ、産物が放射性標識される。これは、RRL に含まれる（ア）が、 ^{35}S -メチオニンを（イ）と結合させ、リボソームにおけるペプチド鎖伸長の基質である（ウ）にするからである。（ア）から（ウ）にあてはまる適切な用語を答えなさい。（12 点）
- (3) タンパク質 A は細胞内でいくつかのリジン残基にアセチル化修飾を受ける。タンパク質 A の翻訳時にアセチル化リジンを直接取り込ませようと考え、リジンに加えてアセチル化リジンを RRL に添加して反応させたが、アセチル化リジンの取り込みは全く見られなかった。アセチル化リジンが RRL 中でタンパク質 A に取り込まれない理由を簡潔に説明しなさい。また、アセチル化リジンをタンパク質 A に直接取り込ませるためには、アセチル化リジンをどのような形で RRL に添加すればよいかを答えなさい。（13 点）
- (4) 上記の実験において、タンパク質 1 分子あたり何個のアセチル化リジンが取り込まれたかを調べるため、等電点電気泳動によりタンパク質 A を分離した。アセチル化リジンの取り込み数に応じてタンパク質 A の等電点がどう変化するかを、理由とともに述べなさい。（13 点）