

問題番号〔3〕＜分子遺伝学・生化学・細胞生物学＞

以下の文章を読み、(1)から(5)の設問に答えなさい。(計50点)

細胞増殖因子は転写制御因子の活性化を通じ、遺伝子発現を誘導したり、細胞内のシグナル伝達系を活性化することで細胞機能を変化させる。細胞増殖因子による細胞分化の過程を理解するためマウス由来の培養細胞を用いて以下の実験を行なった。

- ① 細胞増殖因子 A の添加前後の培養細胞の mRNA の発現量を定量し、発現が上昇した上位 20 遺伝子を増加率の高い順に下の表にまとめた。

遺伝子名	増加倍率	補足情報
<i>Zfp451</i>	14.3	zinc finger タンパク質 451
<i>Hk1</i>	9.1	ヘキソキナーゼ 1
<i>Mrp130</i>	8.1	ミトコンドリア リボソームタンパク質 L30
<i>Col1a1</i>	5.5	コラーゲン 1a1
<i>Ndufa6</i>	5.1	NADHデヒドロゲナーゼ(ubiquinone) 1a複合体サブユニット 6
<i>ldh1</i>	4.8	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ 1
<i>Eno1</i>	4.7	エノラーゼ 1
<i>Cenpl</i>	4.6	セントロメアタンパク質 L
<i>Pdha1</i>	4.2	ビルビン酸デヒドロゲナーゼ
<i>Lss</i>	4.1	ラノステロール合成酵素
<i>Cox6c</i>	3.9	シトクロム c 酸化酵素サブユニット
<i>Eef2</i>	3.6	真核生物翻訳伸長因子
<i>Pk1</i>	3.5	ビルビン酸キナーゼ
<i>Hdac4</i>	3.1	ヒストン脱アセチル化酵素
<i>Gpr98</i>	2.8	G タンパク質-coupled 受容体 98
<i>Mdh1</i>	2.5	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ 1
<i>Rpl8</i>	2.3	リボソームタンパク質 L8
<i>Atp5a1</i>	2.2	ATP合成酵素 (ミトコンドリア) サブユニット
<i>Itgb2</i>	2.2	インテグリン b2
<i>Jun</i>	2.1	jun proto-oncogene

- ② 細胞増殖因子 A による刺激後に、この培養細胞の酸素消費量は大幅に増加した。そこで、実験に用いた細胞のミトコンドリア、小胞体、リソソーム、ゴルジ体などの細胞内小器官を、これらの細胞内小器官に局在するタンパク質に対する抗体を用い、免疫染色にて観察した。また脂肪滴やグリコーゲン顆粒の存在も染色によって確認した。細胞増殖因子はこれらの構造体のうちのいくつかに顕著な変化を誘導した。
- ③ 上記の変化は細胞増殖因子 A によって活性化された転写制御因子 B によると推測された。
- (1) 多くの転写制御因子において DNA 結合ドメインの極性アミノ酸の側鎖が DNA の塩基配列の認識に重要な役割を果たす。これらの極性アミノ酸の側鎖は DNA の塩基を、どのような結合を介して認識するか答えなさい。(10点)
 - (2) mRNA の発現量を定量する方法について、1つ例を挙げて、その方法を簡潔に説明しなさい。(10点)
 - (3) 刺激後の酸素消費量の大幅な増加は、表に示した遺伝子発現の変動にも現れている。酸素消費の上昇にはどの遺伝子の発現上昇が関わっていると考えられるか、遺伝子名とどのように考えた理由を述べなさい。(10点)
 - (4) 酸素消費の上昇はどの細胞内小器官の変化と関連しているか、答えなさい。また、脂肪滴、グリコーゲン顆粒にどのような変化が期待できるか、述べなさい。(10点)
 - (5) 転写因子 B が関与していることを必要十分に示すための実験を2つ挙げ、それぞれを簡潔に説明しなさい。(10点)