

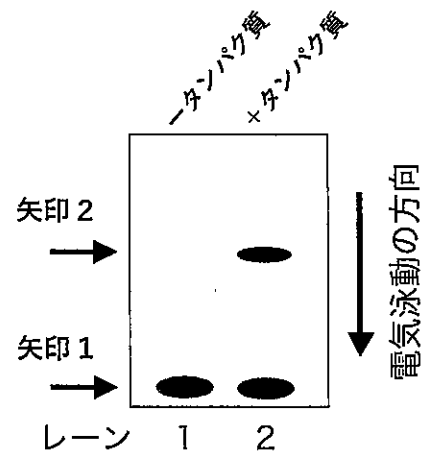
## 問題番号 [ 3 ] <分子遺伝学>

下の文章を読んで設問に答えなさい。(計 50 点)

哺乳類の脳下垂体前葉には 5 種類の細胞があり、それらの細胞からは機能が異なるペプチドホルモンが分泌される。成長ホルモンはその一つで、成長ホルモン産生細胞から分泌される。1990 年代に Rosenfeld らは成長ホルモン遺伝子の発現制御メカニズムの研究を行い、PIT1 という転写制御因子 (転写活性化因子) を発見した。彼らはさらに PIT1 遺伝子の発現制御メカニズムを調べ、この遺伝子のエンハンサー領域に PIT1 自身の結合が可能な配列を見出した。

- (1) 遺伝子の転写にはエンハンサー以外にコアプロモーター (基本転写調節領域) が必要である。エンハンサーとコアプロモーターの構造と機能の違いを説明しなさい。(10 点)

- (2) Rosenfeld らは PIT1 遺伝子のエンハンサー領域に PIT1 が結合することをゲルシフトアッセイで示した。このアッセイでは、放射性同位体  $^{32}\text{P}$  でラベルした DNA 断片と成長ホルモン産生細胞の核から抽出した全タンパク質を混合し、一定時間インキュベートした後に、ゲル電気泳動を行った。泳動後のゲルを X 線フィルムに露光することで、 $^{32}\text{P}$  でラベルされた DNA 断片を捉えた。下の図に示すように、タンパク質非存在下では矢印 1 で示す DNA 断片が、そしてタンパク質存在下では上方にシフトしたバンド (矢印 2) が出現した (レーン 2)。矢印 2 のバンドに PIT1 が結合していることを示すため、抗体を使った実験を行った。実験では、PIT1 に対する 2 種類のモノクローナル抗体 (抗体 1 と抗体 2) を使用した。抗体 1 は PIT1 の DNA 結合ドメインを認識し、その DNA 結合を阻害する。一方の抗体 2 は PIT1 の転写活性化ドメインを認識する。DNA 断片とタンパク質をインキュベートする時に、抗体 1 または抗体 2 が共存すると、レーン 2 で出現したバンドがどのように変化するか、述べなさい。(10 点)



- (3) 上記の実験で Rosenfeld らは PIT1 遺伝子のエンハンサー領域に PIT1 が結合することを示した。次いで、エンハンサー領域の PIT1 結合配列に変異を導入したところ、PIT1 依存的なエンハンサー活性 (転写の活性化能) は消失した。PIT1 遺伝子がこのような制御系を確立したことによるどのような意義があるのか、説明しなさい。(15 点)

- (4) 自己制御系以外に、以下の制御系も存在する。

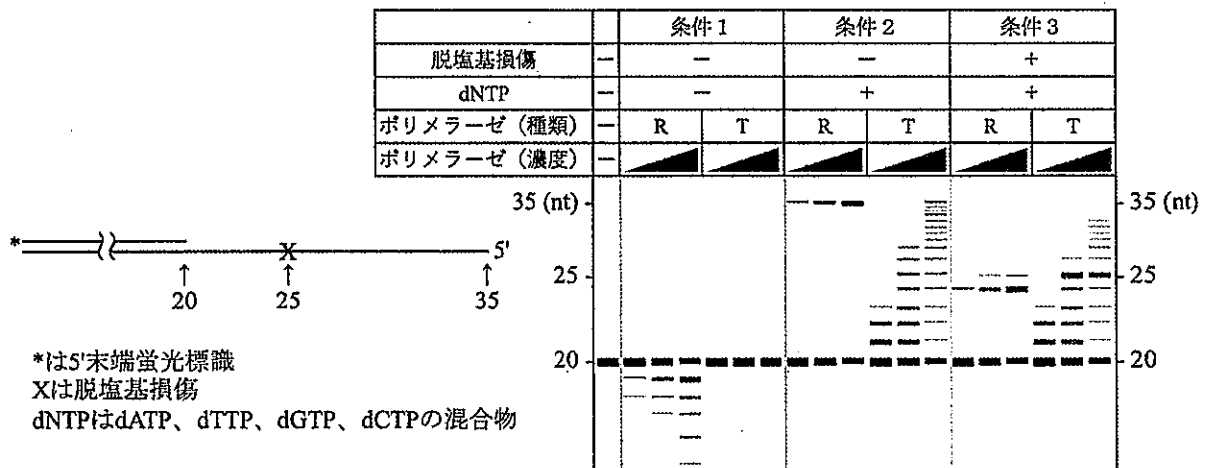
「遺伝子 a」の産物である「タンパク質 A」が「遺伝子 b」を活性化し、「遺伝子 b」の産物である「タンパク質 B」が「遺伝子 a」を抑制する制御系である。このような制御系によってどのような遺伝子発現が可能となるのか、説明しなさい。(15 点)

## 問題番号 [4] <分子遺伝学>

次の文章を読んで設問に答えなさい。(計 50 点)

DNA ポリメラーゼは、DNA 合成を行う酵素であり、DNA 複製に加えて DNA 修復や損傷乗り越え DNA 合成 (TLS) などの様々な役割を担う。現在、ヒトでは少なくとも 14 種類の DNA ポリメラーゼが知られている。下の図は、ヒトの複製型ポリメラーゼ R と TLS 型ポリメラーゼ T の生化学的性質をプライマー伸張法により調べた図である。基質 DNA (左) と電気泳動像 (右) を模式的に示す。基質 DNA は 35 ヌクレオチド (nt) の鋳型 DNA に 20 nt のプライマーをアニールさせたものであり、プライマーの 5' 末端は蛍光標識してある。

- (1) 下図の条件 1 では、dNTP を加えておらず、ポリメラーゼによる DNA 合成が起きない。この条件の電気泳動像には、ポリメラーゼ R に対して T にはない活性が表れている。この活性の DNA 複製における役割を説明しなさい。(10 点)



- (2) 条件 2 では、損傷のない鋳型上で DNA 合成を行わせた。プライマー消費量には違いが見られないものの、ポリメラーゼ R では 35 nt より小さいバンドがほとんど見られないのに対し、T では主に 35 nt よりも短い産物が観察された。この結果から推測されるポリメラーゼ R と T の性質の違いを説明しなさい。また、その性質の違いが、生体内でのポリメラーゼ R と T の使い分けに果たす役割を推測し、簡潔に説明しなさい。(15 点)
- (3) 条件 3 では、鋳型の 3' 末端から 25 nt の位置 (X) に脱塩基損傷を導入し、DNA 合成を行わせた。この条件では、ポリメラーゼ R はほとんどが 24 nt の位置で DNA 合成を停止したのに対し、T では 25 nt の産物が最も多く、量は少ないものの、26 nt 以上の産物も観察された。この結果から推測されるポリメラーゼ T の性質を説明しなさい。(10 点)
- (4) 以上の結果は、ポリメラーゼ T が脱塩基損傷を乗り越えて合成できることを示す。T が脱塩基損傷の向かい側にどの塩基をどのような割合で挿入するかを知るにはどのような実験を行えばよいか、その実現性も考慮し、具体的な方法を簡潔に説明しなさい。(15 点)