

分子遺伝学 1/2

問題 [1]、[2]、[3] は、それぞれ別々の解答用紙に答えなさい。

[1] 次の文章を読んで、以下の問いに答えなさい。（計40点）

A君は卒業研究として、ヒトの酵素Xを大腸菌で発現させて、得られたタンパク質の活性を検出することになった。この酵素は①ヒト細胞の生存に必須で、体組織のどの細胞でも発現している。そこでヒト由来の細胞の全RNAを抽出し、それに含まれる mRNA を②オリゴ dT (deoxythymidine) を結合させたビーズに吸着させ、ビーズを洗浄して非特異的結合物をのぞいた後、③( ③ )を添加することで回収した。さらに、この精製した④mRNA を鋳型にして( ④ )を使って cDNA を合成した。酵素Xの cDNA の塩基配列はすでにデータベースに登録されていた。そこでその塩基配列をもとにしてプライマーを設計し、合成した cDNA を鋳型として PCR 反応を行った。増幅された DNA を制限酵素で処理し、あるプラスミドベクター上の大腸菌で機能するプロモーターの⑤下流部位に挿入した。得られたプラスミドの制限酵素切断パターンからは、目的の DNA 断片がプロモーターの向きに対して、正しい方向で挿入されていることがわかった。しかし、塩基配列を決定したところ、⑥cDNA 内の塩基配列に変異が入っていた。A君はこの配列から、たとえ、この発現プラスミドを使って、大腸菌で酵素Xを発現しても、目的のタンパク質の3分の1長のポリペプチドしか産生せず、活性を検出するのは困難と考えた。

- (1) 下線①の必須遺伝子 (essential gene) のように、どの細胞でも発現している遺伝子の総称を英語で答えなさい。(3点)
- (2) 下線②で、このようなビーズで精製できるのは mRNA にどのような特徴があるためか、簡潔に答えなさい。(5点)
- (3) 下線③の回収するための方法として ( ③ ) に入る内容の最も適切なものを下から1つ選び記号で答えなさい。またその方法でオリゴ dT ビーズから mRNA を回収できる理由を簡潔に答えなさい。(10点)
  - (a) RNA 分解酵素
  - (b) タンパク質分解酵素
  - (c) 高塩濃度の中性の緩衝液
  - (d) 低塩濃度の中性の緩衝液
  - (e) 0.1M NaOH 溶液
  - (f) 0.1M HCl 溶液
- (4) 下線④の ( ④ ) に入る酵素名を答えなさい。また、この酵素は何に由来するか、最も適切なものを答えなさい。(6点)
- (5) 下線⑤において、ヒトタンパク質を cDNA 配列から大腸菌で発現させるためにはプロモーターと開始コドンの間に大腸菌特有の塩基配列を必要とする。その配列の名前と特徴で答えなさい。また、このような配列がヒト細胞における遺伝子発現に必要ないのは、大腸菌とヒト細胞の翻訳のしくみにどのような違いがあるためか、簡潔に答えなさい。(10点)
- (6) 下線⑥の変異はどのような変異と考えられるか、2つの可能性を示しなさい。(6点)

分子遺伝学 2/2

〔2〕真核生物のタンパク質をコードする遺伝子は、通常は組織にかかわらずその構造（塩基配列）は同一である。次の問いに答えなさい。（計30点）

- （1）特定の組織でのみ発現が見られる遺伝子の転写機構について、以下の用語を全て使って説明しなさい。（用語：プロモーター、エンハンサー、RNAポリメラーゼⅡ、転写因子）。（10点）
- （2）同一の遺伝子から複数種のタンパク質が発現する場合がある。そのメカニズムを1つ挙げ、説明しなさい。（10点）
- （3）ある種の細胞では他の細胞とは遺伝子の構造が異なる場合がある。その例を挙げ説明しなさい。（10点）

〔3〕次の文章を読んで、以下の問いに答えなさい。（計30点）

タンパク質Aは、マウスの培養細胞株Mの細胞質において、遺伝子Sの発現に関わっていることが分かっている。そこで、タンパク質Aと物理的に相互作用するタンパク質を、次の2つの方法で探索し、その結果を比較することにした。

- ① 抗体を用いたプルダウン法
- ② 酵母2-ハイブリッド法

- （1）①と②の方法を、それぞれ簡単に説明しなさい。（14点）
- （2）①の方法で同定したタンパク質Bについて、酵母2-ハイブリッド法を用いてタンパク質Aとの相互作用を検出しようとしたが、様々な工夫をしても検出できなかった。このとき、考えられる理由を2つ挙げなさい。（8点）
- （3）タンパク質Cは、①と②のいずれの方法でも、タンパク質Aと相互作用する可能性があることがわかった。そこで、タンパク質Aとタンパク質Cの働きを調べるために、培養細胞株Mにおいて、RNAi（RNA干渉）を用いて遺伝子発現を阻害したところ下記のような結果が得られた。
  - （ア）タンパク質Aをコードする遺伝子の発現だけを阻害したところ、遺伝子Sの発現が野生型より増えていた。
  - （イ）タンパク質Cをコードする遺伝子の発現だけを阻害したところ、遺伝子Sの発現が野生型より減っていた。
  - （ウ）タンパク質Aをコードする遺伝子とタンパク質Cをコードする遺伝子の発現を同時に阻害したところ、遺伝子Sの発現が（イ）の実験と同程度にまで減っていた。
  - （エ）これらの実験では、RNAiによって、タンパク質Aとタンパク質Cの発現が十分に抑制されていた。このとき、タンパク質Aとタンパク質Cの機能や関係についてどのようなことが推測できるか、説明しなさい。（8点）