

[分子生物学II] (全2題)

[問題 1] 次の文を読み、問A～Fに答えよ。

アミノ酸Zを栄養素として要求する大腸菌の変異株（Z変異株と呼ぶ）がある。野生株大腸菌の染色体DNAを、低濃度の4塩基認識制限酵素【イ】で部分切断し、図に示したプラスミドDNAを6塩基認識制限酵素【ロ】で完全切断したものと混ぜ合わせ、酵素【ハ】とATP, Mg²⁺などを加えて保温した後、Z変異株へ導入し、アミノ酸Zを含まない寒天培地で生育可能なコロニーを選択した。これらのコロニーを培養してプラスミドDNAを抽出し、一本鎖に変性させてから、17 mer デオキシオリゴヌクレオチド：5' N₁₂ G【14】【15】【16】【17】 OHと保温した後、4本の試験管に分注した。これらに、酵素【ニ】、α³²P標識を施した4種類のデオキシリボヌクレオシド・3リン酸、適当な濃度の【ホ】を1種類ずつ、およびMg²⁺などを加えて保温した後、反応物を、尿素を含むポリアクリルアミドゲル中で電気泳動し、X線フィルムに感光させた。その結果を検討したところ、得られたプラスミドは2種類X、Yに分類された。Xプラスミドはコピー数が細胞あたり1の状態でもZ変異株のアミノ酸Z要求性を相補したが、Yプラスミドは細胞あたり30コピー程度存在した時のみZ変異株の最少培地での増殖を許した。次にYプラスミドをヒドロキシルアミンで処理し、上記の能力を失った変異プラスミドY'を得た。興味深いことに、このY'を野生株大腸菌に導入したところ、その増殖はアミノ酸Z要求性になった。なお、図は最初に用いたプラスミドDNAを示し、その制限酵素切断部位を幾つか示している。また、いくつかの制限酵素の認識・切断部位を右側の図に示した。

問A 【イ】～【ホ】に適切な語句を入れよ。但し、制限酵素に関しては図（右側または左側）に示したのものから選択すること。

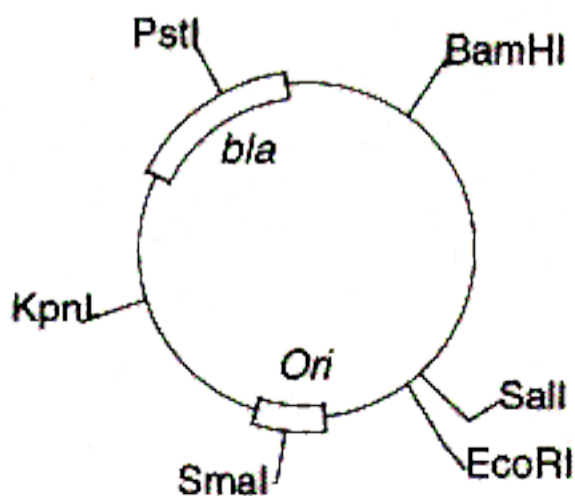
問B 制限酵素【イ】を低濃度用いて部分切断をする理由を記せ。

問C 下線部の【14】～【17】には、用いた17 mer デオキシオリゴヌクレオチドの残基14, 15, 16, 17の塩基として適当なものを、与えられた情報の中から類推し、ACGTの記号で入れよ。また、このデオキシオリゴヌクレオチドは、酵素【ニ】の反応で、どのような役割を果たすか、説明せよ。なお、N₁₂はこのオリゴヌクレオチドの残基1～12の配列（図示したプラスミドに含まれる）を示す。

問D 点線下線部の実験は何を知ろうとしているのか、その原理とともに説明せよ。

問E X、Y両プラスミドには、それぞれどのような遺伝子がクローン化されたと考えられるか。あなたの考えを記せ。

問F プラスミドY'が、何故野生株細胞をアミノ酸Z要求性にしてしまうのか、考えられる機構を一つ挙げて説明せよ。



(bla = β-lactamase gene)
(Ori = origin of replication)

制限酵素	切断部位
MspI	5'.....CCGG.....3' 3'.....GGCC.....5'
Sau3AI	5'.....GATC.....3' 3'.....CTAG.....5'
RsaI	5'.....GTAC.....3' 3'.....CATG.....5'
SmaI	5'.....CCCGG.....3' 3'.....GGGCC.....5'
KpnI	5'.....GGTACC.....3' 3'.....CCATGG.....5'
PstI	5'.....CTGCAG.....3' 3'.....GACGTC.....5'
BamHI	5'.....GGATCC.....3' 3'.....CCTAGG.....5'
EcoRI	5'.....GAATTC.....3' 3'.....CTTAAG.....5'

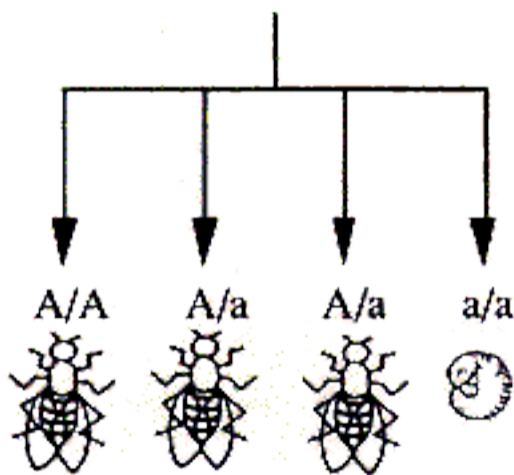
〔問題 2〕 次の文を読み、問A～Bに答えよ。

ショウジョウバエの形態形成に関与する2種類の遺伝子AとBがある。これらの遺伝子の機能を調べるため、それぞれの遺伝子の機能を欠失させた変異体を作成した。図に示すように、それぞれの遺伝子をヘテロに欠損させた変異体どうしを掛け合わせて、ホモに欠損をもつ受精卵を作製し、発生の過程を調べた。その結果、遺伝子Aをホモに欠損した変異体は胚の時期に致死となり発生が停止した。一方、遺伝子Bをホモに欠損した変異体は成虫にまで成長した。この遺伝子Bのホモ欠損体がオスの場合は、野生型のメスと交尾し、受精した卵は正常に成長した。しかし遺伝子Bのホモ欠損体がメスの場合は、野生型のオスと交尾しても、産卵した卵は胚の時期に致死となった。

- 問A 遺伝子AやBの産物がショウジョウバエの形態形成に関与していると考えられるが、形態形成の遺伝子支配はどのようになされると思うか。400字程度で説明せよ。
- 問B 遺伝子A、または遺伝子Bをホモに欠損させることにより、いずれも胚発生に致死的效果を与え得る。しかし、致死性が現れる世代等に関しては、全く異なる。こうした違いが現れる機構として、どのようなことが考えられるであろうか。特に、遺伝子Bの産物の働きに注目して説明せよ。

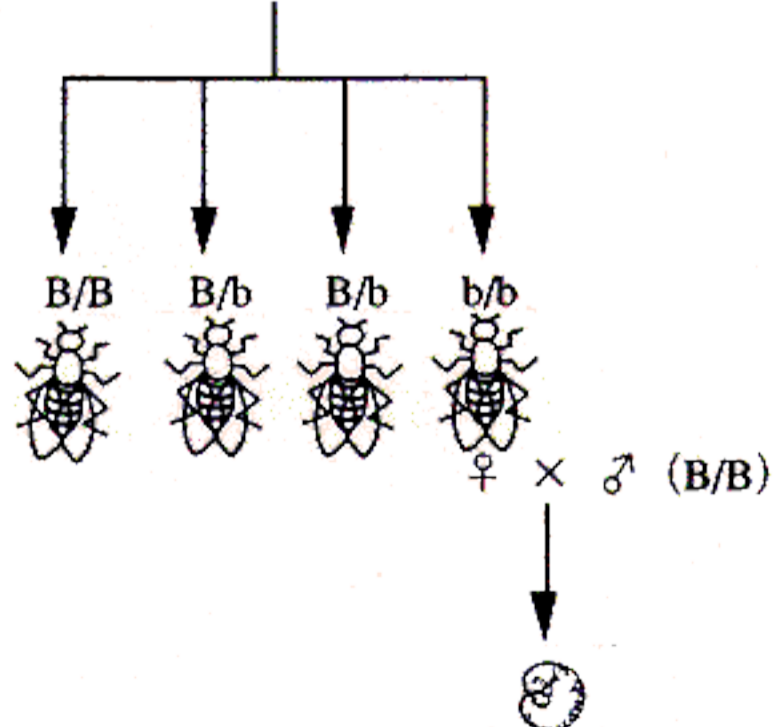
遺伝子Aに関するかけ合わせ
(A: wild type, a: mutant)

♂ (A/a) × ♀ (A/a)



遺伝子Bに関するかけ合わせ
(B: wild type, b: mutant)

♂ (B/b) × ♀ (B/b)



( は、成虫への正常な発生を、 は、胚の段階での致死を表す)