

分子遺伝学定期試験 2018年2月8日実施

問題[1]—[3]は1枚の回答用紙に、[4]—[6]は別の回答用紙に、答えを記入しなさい。

[1] 変異に関して以下の問いに答えなさい。

- (1) 自然突然変異に対して、変異原を用いて起こさせた変異を何というか答えなさい。
- (2) 点変異においてトランスポージョンはトランジションよりミスセンス変異となりやすい。この差が生じる原因を説明しなさい。
- (3) ナンセンス変異とは何か説明しなさい。
- (4) サプレッサー変異(抑圧変異)とは何か説明しなさい。
- (5) 木村資生らが提唱した「分子進化の中立説」では、中立変異とはどのようなものを指すか説明しなさい。

[2] 大腸菌のDNA修復に関する下記の文章で、空欄に当てはまる正しい語を答えなさい。

九州大学の関口睦夫、堀内 嵩らは、DNAポリメラーゼIIIホロ酵素のDnaQサブユニットを見出した。この因子は校正機能の主役となるため、DnaQ機能が欠損するとDNA複製時に誤ったヌクレオチドが取り込まれ(a)が多発する。(a)は野生型細胞でも低頻度で発生する。このような複製エラーを修復する系を(a)修復系という。この修復系においては、MutSLH複合体が、誤って取り込まれた塩基の近傍で新生DNA鎖(娘鎖)を切断し、その部位の再複製が行われる。新生DNA鎖の認識にはGATC配列のAの(b)化が目印となり、(b)化されていないDNA鎖が新生DNA鎖として認識され切断される。

紫外線によってチミンダイマー(二量体)が生じた場合の修復には、まず、光エネルギーを利用してチミン間の結合を酵素的に切断する(c)と呼ばれる系がある。さらに、チミンダイマーを含む1本鎖DNA領域がUvrABCエンドヌクレアーゼにより切断され、生じたギャップ(1本鎖)領域のDNA合成が行われる修復系がある。この修復系を(d)という。なお、ヒトにも(d)に相当するDNA修復系があり、これが遺伝的に欠損する病気(e')では、日光の刺激ですら皮膚ガンが多発する。

これらの修復が複製フォーク到達前に行われなかった場合、DNAポリメラーゼIIIホロ酵素はチミンダイマーの手前で停止し、1本鎖DNAからなるギャップ領域が残る。この領域に(e)タンパク質が集合し、相同組換え反応を進める。すなわち、姉妹DNA鎖間でのDNA鎖交換を行い、無傷の相補DNAを鋳型とすることで新規なDNA複製を行う。残ったDNA損傷は上記の系で修復される。(e)タンパク質による相同組換え反応の中間体は(f)と呼ばれる。九大薬学部の尾辻 望らが見出したRuvABタンパク質は、(f)に結合してDNA鎖を動かす(g)反応を担う。

相同組換え反応は、DNA修復のみならず、普遍的組換えにおける重要な反応となっている。P1ファージは感染した宿主のゲノムDNAの一部を取り込み、次に感染した菌のゲノムDNAにそのDNAを移し込む機能がある。この機能を(h)という。(h)においても(e)タンパク質による相同組換え反応が必要である。

DNA損傷が非常に多数の部位で生じた場合、1本鎖DNAと結合した状態の(e)タンパク質が増加し、一連の遺伝子の発現を抑制していた(i)タンパク質(リプレッサー)の分解を促す。これによりumuDC遺伝子などが誘導されて、(j)複製が行われる。このような一連の応答反応を(k)という。(j)は変異を生じやすいため、(k)は修復系における最後の手段として発動される。

[3] プラスミドとファージについて以下の問いに答えなさい。

(1) F プラスミドや R プラスミドは低コピー数であるにも拘らず、安定に維持される。これを保証している分子機構のうち TA (toxin-antitoxin) 機構 (または Post-segregational killing 機構) は、F プラスミドをもちいて平賀壯太・小椋 光ら (京大→熊大) により遺伝学的に発見され、堀内忠郎・三木健良・真木智子ら (九大薬) により生化学的に分子機構が解明された。現在では TA 機構は、多剤耐性をもたらす低コピープラスミドにも一般的に存在することがわかっている。さらに TA 機構をもつ遺伝子は細菌ゲノムにも多数存在することがわかり、これらが増殖制御に関わっている可能性や新規抗菌剤の標的となる可能性が検討されている。真木らが F プラスミドで解明した分子機構を説明しなさい。図を用いてもよい。

(2) pUC 系プラスミドの複製起点はもともと ColE1 にあったものである。またこのプラスミドのアンピシリン耐性遺伝子 (*bla*) はもともとトランスポゾン Tn3 にあったものである。

(2-1) ColE1 複製起点でプライマーRNA を形成する蛋白質は何か答えなさい。

(2-2) トランスポゾンの一般的な基本構造を説明しなさい。図を用いてもよい。

(3) F プラスミドや多剤耐性をもたらす R プラスミドが自身の DNA を水平伝播するために行う機構を何と呼ぶか答えなさい。

(3) λ ファージ DNA などのファージ DNA が溶原化して宿主ゲノムに組み込まれている場合、その状態のファージを何と呼ぶか答えなさい。

(以下は別の回答用紙を使用すること)

[4] 遺伝子工学に関する下記の文章で、空欄に当てはまる正しい語を答えなさい。

Werner Arber らによって発見された (a) は特定の塩基配列を認識して 2 本鎖 DNA を切断する。切断された DNA 断片の末端構造は (b) と (c) に区別される。同じ (a) で切断された (c) 同士は相補的に結合する。この結合した部分に (d) が作用すると、隣接した DNA 鎖の 5'-P 末端と 3'-OH 末端とがホスホジエステル結合により連結される。

遺伝子工学ではプラスミドやコスミドなどを DNA 断片の増幅のために用いる。このように自律複製能をもつ DNA 分子の総称は (e) という。DNA ライブラリーは (e) にクローニングされた DNA 断片のコレクションである。このうち mRNA と相補的な DNA 断片をベクターにクローニングすることで生成されるものを (f) という。相補的 DNA の合成にはレトロウィルス由来の (g) を用いる。

[5] 染色体歩行、コロニーハイブリッド形成法、サザンブロットティングなど、標的 DNA 配列の存在を検出する手法には共通の原理が働いている。その原理について、以下のキーワードを使って説明せよ。

キーワード：プローブ、相補的、標識、アルカリ、ハイブリッド形成

[6] ポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR 法) の原理について、以下のキーワードを使って説明せよ。

キーワード：プライマー、熱変性、アニーリング、耐熱性

(以上)