

生体機能化学

【問1】DNAの複製およびDNAからの転写について記述した次の文章を読み、設問1)～3)に答えよ。

DNAとRNAは、共に各ポリメラーゼによって、DNAは複製され、RNAはDNAを鋳型として転写されることによって合成される。(i)DNA複製における伸長反応とは異なり、RNAへの転写反応では一方のDNA鎖のみを鋳型としてRNAが合成されていく。また、(ii)DNAの複製反応では校正機構があるのに対して、RNAへの転写反応にはそれがない。

転写反応では、調節タンパク質によってRNAの転写速度が制御されており、合成されるタンパク質の量が増加するものがある。(iii)大腸菌では、ラクトース存在下でもグルコース濃度が高いときは、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子を含むRNAはあまり合成されないが、グルコースが枯渇するとそのRNAの合成速度は増加する。

- 1) 下線部 (i) について述べた以下の文章の空欄 **ア**、**イ** に最も適切な語句を答えよ。また、空欄 **ウ** ～ **コ** については最も適切な語句をそれぞれ下の **語群** から選んで答えよ。

DNA複製においては、**ア** 鎖と **イ** 鎖のDNAが合成されていく。**イ** 鎖では、**ウ** と **エ** 進行方向に **オ** が **カ** を不連続に合成していく。そして、**カ** の間を **キ** が5'末端から3'末端の方向で **ク** 活性によって **ケ** を分解しながらDNAを合成していき、最後に **コ** が **カ** の間を接合する。

語群：岡崎フラグメント、エキソヌクレアーゼ、エンドヌクレアーゼ、同じ、逆の、複製フォーク、DNAリガーゼ、DNAプライマー、RNAプライマー、DNAポリメラーゼI、DNAポリメラーゼII、DNAポリメラーゼIII

- 2) 下線部 (ii) について、RNAへの転写反応には校正機構がないが、そのことが細胞の不利益にならない理由を述べよ。
- 3) 下線部 (iii) の理由を、ラクトースとグルコースの存在がRNAの合成に与える影響を含めて説明せよ。

【問2】5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリルβ-D-ガラクトシド(X-gal)を5-ブロモ-4-クロロ-3-ヒドロキシインドールへ分解するβ-ガラクトシダーゼがコードされた遺伝子を含む発現ベクター(図1)を用いて、大腸菌でのタンパク質発現を考える。設問1), 2)に答えよ。

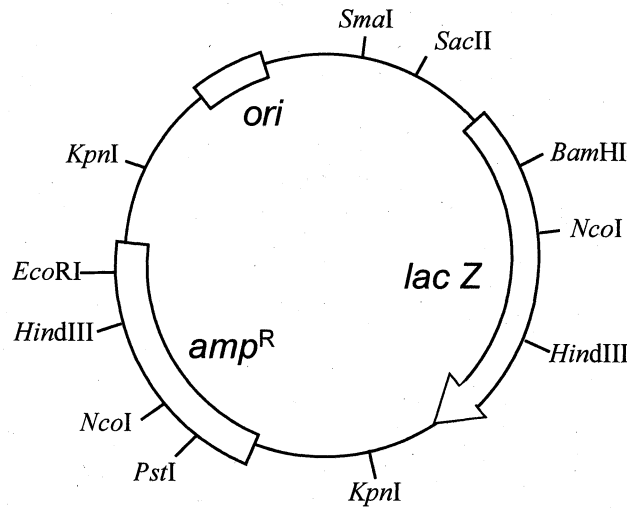


図1 発現ベクター

- 1) 発現ベクターに、一つの mRNA から2つのタンパク質 A と B が合成される遺伝子断片を挿入したい。タンパク質 A および B の遺伝子配列と下の**語群**中の制御配列をどのように5'末端側から並べればよいか、答えよ。ただし、**語群**中には使わない配列も含み、必要ならば複数回使用してもよい。

語群： 開始コドン， 終止コドン， トランスフェラーゼ結合部位， ターミネーター， 複製起点， プロモーター， マーカー遺伝子， マルチクローニング部位， マルチスクリーニング部位， リード遺伝子， リボソーム結合部位

- 2) 2つの異なる制限酵素で処理した発現ベクターへ、1)の遺伝子断片を連結酵素によって連結反応させた。そして、そのベクターで大腸菌を形質転換し、X-gal とアンピシリンを含む寒天培地プレートで培養したところ、コロニーは形成され、その色はすべて青色であった。a)とb)に答えよ。

a) 用いた2つの制限酵素はなにか、答えよ。

b) 別の2つの制限酵素を用いたとき、青色のコロニーのほかに白色のコロニーも形成された。用いた2つの制限酵素はなにか、可能性のあるすべての組み合わせを答えよ。また、コロニーが白色になる理由も答えよ。