

北大生物テスト 第4回

解答はすべて各問題の指示にしたがって解答用紙の該当欄に記入せよ。

1 次の文章を読み、以下の問に答えよ。

遺伝物質として中心的役割を果たしている a 核酸(DNA と RNA) は (ア) が鎖状につながった高分子化合物であり、(ア) は塩基、糖および (イ) から構成されている。DNA は2本の鎖からなる (ウ) 構造をなしているのに対し、RNA は1本鎖であり、mRNA(伝令 RNA)、(エ) RNA(転移 RNA)、rRNA(リボソーム RNA)の3種類がある。DNA が複製されるときには、2本鎖が1本ずつに分離し、それぞれの鎖を鋳型にして新しい鎖がつくられる。このような複製のしかたを (オ) 複製という。

プラスミドは、細菌の染色体 DNA とは独立に複製されて子孫に伝えられる小形の環状 DNA である。そのため、特定の遺伝子をプラスミドにつないだ組換えプラスミドを大腸菌などに取り込ませると、プラスミドが細菌内で複製されるにつれて、その遺伝子のコピーも増える。このようにして b 特定の遺伝子と同じ塩基配列をもつ DNA 断片を得る操作をクローニングという。

ある遺伝子(A 遺伝子)をコードする DNA をクローニングするため、それぞれ特定の塩基配列を認識して DNA を切断する酵素 B、酵素 E、酵素 K の3種類の (カ) 酵素と、DNA 断片をつなぎ合わせる酵素である (キ) を用い、以下の手順で A 遺伝子をコードする DNA をプラスミド R に組み込んだ組換えプラスミドを作製した。なお、プラスミド R は全長 4361 塩基対の環状 DNA であり、抗生物質アンピシリンの耐性遺伝子(Amp^r)と抗生物質テトラサイクリンの耐性遺伝子(Tet^r)を含んでいる(図1)。 Amp^r や Tet^r をもたない大腸菌は、これらの抗生物質を含む培地で増殖できない。また、プラスミド R において、それぞれの (カ) 酵素が認識して切断する部位は図1に示すとおりであり、図1中の()内の数字は酵素 E が認識する塩基配列の中央を0番とし、その位置からの各酵素が認識する塩基配列の中央までの塩基数を示している。

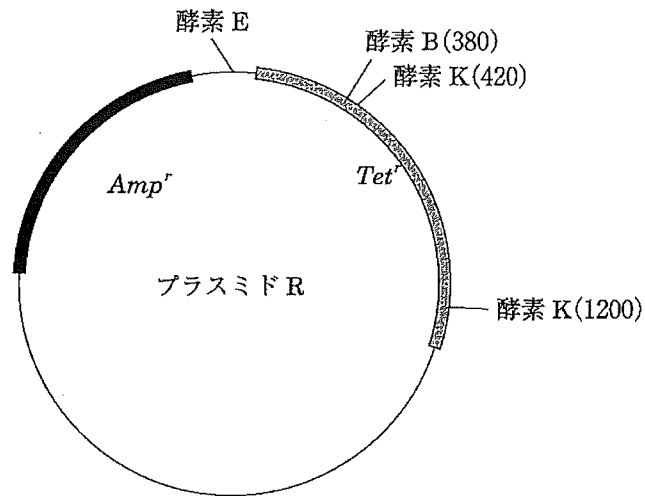


図 1

手順 1 A 遺伝子をコードする DNA 断片の両端を酵素 K で切断し、1620 塩基対の DNA 断片 (DNA 断片 A) を作製した。同様に、プラスミド R を酵素 K で 2 か所切断してその間の DNA 断片を除いた後、DNA 断片 A と混ぜ合わせてから (キ) によってつなぎ合わせ、プラスミド R に DNA 断片 A を 1 つだけ組み込んだ組換えプラスミドを作製した (図 2)。なお、図 2 中の白い矢印は A 遺伝子を鋳型として RNA が合成される方向を示している。また、酵素 K が認識して切断する塩基配列を図 3 に示す。

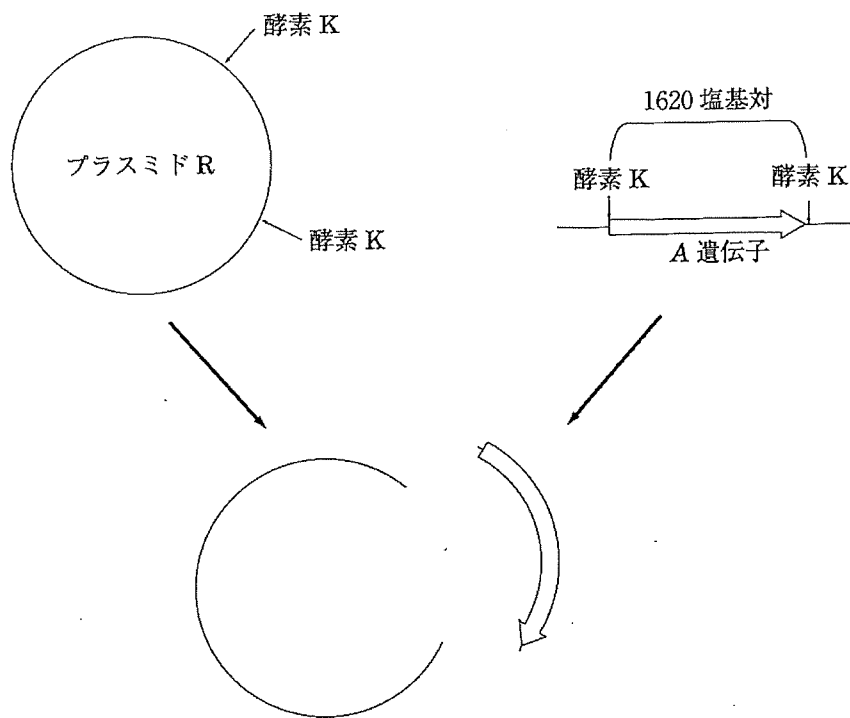


図 2

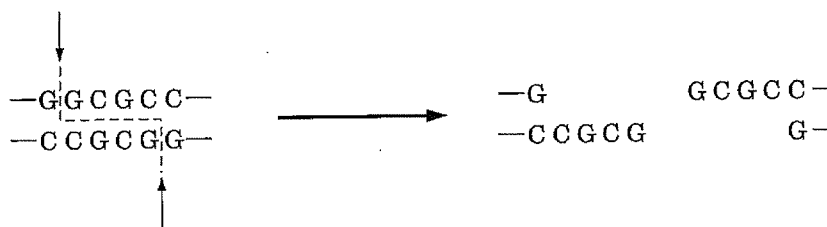


図 3

手順2 手順1によって作製した組換えプラスミドを大腸菌に取り込ませて適当な温度で培養した。抗生物質に対する抵抗性の違いから、組換えプラスミドを取り込んだと考えられる大腸菌のコロニーを選別し、それぞれのコロニーからプラスミドを回収したところ、2種類のプラスミドが得られた。それぞれのプラスミドを組換えプラスミド R1(R1)と組換えプラスミド R2(R2)とよぶことにする。R1とR2をより詳細に調べるため、R1とR2を図4に示したそれぞれの酵素によって切断し、電気泳動により切断されたDNA断片の長さを測定した。なお、短いDNA断片ほど泳動速度が速いので、より移動距離が大きくなる(図4中の破線は、移動距離が同じであったことを示している)。また、DNA断片Aの中には酵素Eと酵素Kが認識する塩基配列は存在せず、開始コドンに近い酵素Kの認識する部位から数えて350番目の塩基配列の1か所だけに酵素Bの認識する塩基配列が存在する。

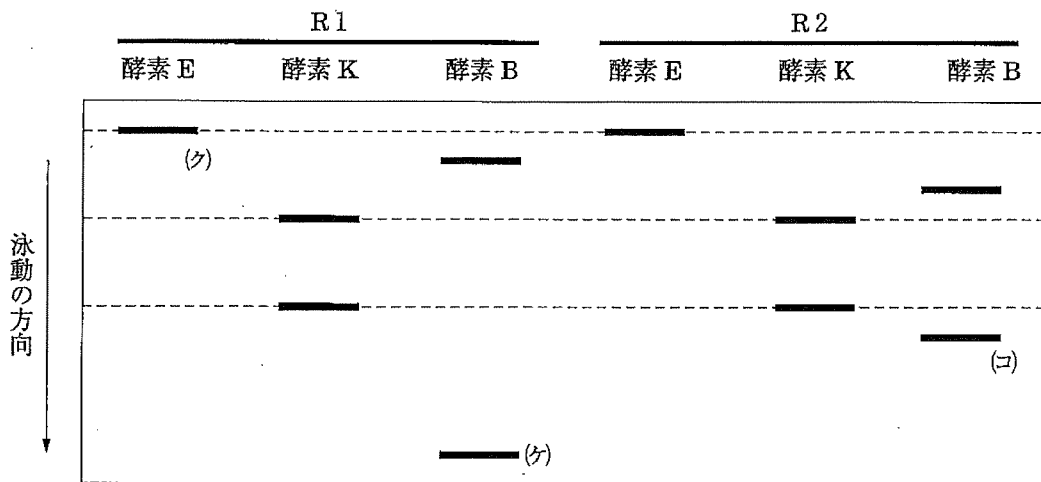


図4

問1 文中の ～ に適切な語句を入れよ。ただし、略称・記号で答えてはならない。

問2 下線部 a について、DNA と RNA の構成要素のちがいを 70 字以内(句読点を含む)で説明せよ。

問3 下線部 b について、遺伝子組換えにより組換えプラスミドを作製するのは、クローニングを行う場合だけではない。例えば、プラスミドにヒトの遺伝子をコードする DNA 断片を組み込んで大腸菌の細胞内で発現させることで、ヒトの有用なタンパク質を大量に合成することが可能である。この場合、ヒトの細胞内から得た mRNA を鋳型として、逆転写酵素によって目的の遺伝子をコードする DNA 断片を作成する必要がある。この操作が必要となる理由を、50 字以内(句読点を含む)で説明せよ。

問4 図3の酵素 K が認識して切断する塩基配列は、DNA の塩基配列上に何塩基対に1度の割合で現れるか答えよ。なお、この DNA では4種類の塩基の割合が等しく、4種類の塩基がランダムに配列しているものとする。

問5 下線部 c について、A 遺伝子を組み込んだ目的の組換えプラスミドを取り込んだ大腸菌は抗生物質に対してどのような性質を示すと考えられるか、50 字以内(句読点を含む)で説明せよ。

問6 手順2の結果について、以下の設問に答えよ。

- (1) 図4の中の(ク)のバンドに含まれる DNA 断片は何塩基対か。四捨五入により有効数字二桁で答えよ。
- (2) 図4の中の(ケ)のバンドに含まれる DNA 断片は何塩基対か。四捨五入により有効数字二桁で答えよ。
- (3) 図4の中の(コ)のバンドに含まれる DNA 断片は何塩基対か。四捨五入により有効数字二桁で答えよ。