

平成19年度 大学院博士前期課程入学試験問題

受験番号	
------	--

分子細胞生物学

問題 1. 細胞小器官に関する下記の文章を読んで、(1) から (4) の設問に答えなさい。(配点30/100)

(a)真核細胞の細胞質には、膜で囲まれた(b)細胞小器官があり、それぞれ独自の構造と機能を持つ。小胞体、ゴルジ体、エンドソームなどの単一の膜に囲まれた細胞小器官や、(c)葉緑体やミトコンドリアのように二重の膜で囲まれた細胞小器官がある。小胞体において合成されたタンパク質は各細胞小器官に輸送されるほか、ゴルジ体を經由して細胞外に(d)分泌されることもある。

代表的な真核細胞である酵母の突然変異体を用いて分泌過程に関与する遺伝子を解析した。(e)電子顕微鏡で突然変異体の細胞内を観察すると、遺伝子 A の突然変異体には小胞体が大きくなった小胞体嚢が複数観察された。一方、遺伝子 B の突然変異体には輸送小胞が蓄積していた。

- (1) 文章中の(a)から(e)の用語を英語で記しなさい。
- (2) エンドソームの役割について、次の括弧内の3つの用語を適切に用いて100字以内で解説しなさい。(ゴルジ体、リソソーム、エンドサイトーシス)
- (3) ミトコンドリアの役割について、次の括弧内の5つの用語を適切に用いて300字以内で解説しなさい。(クリステ、TCA回路、酸化的リン酸化、電子伝達、ATP合成酵素)
- (4) 遺伝子 A と遺伝子 B は分泌経路のどの部分に関与する遺伝子産物をコードしているか、理由とともに述べなさい。

問題2. 植物の遺伝子組換え技術に関する下記の文章を読んで、(1) から (3) の設問に答えなさい。(配点30/100)

根頭がん腫 (crown gall) と呼ばれる腫瘍のような病状組織が双子葉植物の茎に時々見られる。この病気は、土壌細菌である *Agrobacterium tumefaciens* によって引き起こされることが明らかにされ、その後 *A. tumefaciens* 自身がその原因ではなく、*A. tumefaciens* が保持するプラスミド (Ti プラスミドと呼ばれる) によることが示された。さらに研究が進められ、Ti プラスミドの一部の領域 (T-DNA と呼ばれる) が植物細胞へ移動し、染色体 DNA に組み込まれ、そこで T-DNA に存在する遺伝子群が機能して腫瘍を引き起こすことがわかった。

DNA が細菌から植物へ移動することを利用して、植物へ外来遺伝子の導入方法が開発された。最近では、遺伝子組換えにより開発された「青いバラ」が話題となっている。これまで「青いバラ」は存在せず、従来の育種方法では不可能だと考えられていた。青い花を咲かす植物には、青色色素を合成する酵素 flavonoid 3', 5'-hydroxylase が存在する。そこで、この酵素の遺伝子を単離して、*A. tumefaciens* を介した方法によりバラに導入した。その結果、これまで青色色素を合成できなかったバラの花に青色色素を合成させることに成功した。

- (1) T-DNA が植物細胞の染色体 DNA に組み込まれていることを示す実験的方法について200字以内で述べなさい。ただし、この事実が示された当時にはPCR技術はなかった。
- (2) T-DNA には植物ホルモン合成に関わる遺伝子が存在し、植物に内在性とのホルモンのバランスが崩れたことにより、細胞が異常に増殖した。関係する2種の植物ホルモンの名前を挙げなさい。
- (3) 青色色素を合成する酵素 flavonoid 3', 5'-hydroxylase の cDNA (二本鎖) を単離した。染色体にある遺伝子の情報は、RNA へと転写され、タンパク質へと翻訳される成熟型 mRNA へと変換される。
 - 3-1) 染色体 DNA にある情報が、成熟型 mRNA へと変換される。この過程について図を使い、次の括弧内の5つの用語を用いて説明しなさい。
(染色体 DNA、成熟型 mRNA、エキソン、ポリ(A)尾部、5'キャップ構造)
 - 3-2) 成熟型 mRNA より二本鎖型 cDNA を調製する方法を簡単に述べなさい。
 - 3-3) flavonoid 3', 5'-hydroxylase の cDNA を持つ組換えプラスミドを *A. tumefaciens* に導入する。この *A. tumefaciens* を用いた形質転換バラ植物体の作出方法について簡単に述べなさい。

問題 3. 転写に関する下記の文章を読んで、(1) から (3) の設問に答えなさい。(配点 22 / 100)

真核生物の転写は、その産物の種類、つまり mRNA、rRNA、tRNA かによって 3 種類の異なる酵素により転写される。すなわち、(a) は mRNA を、(b) は rRNA を、(c) は tRNA またはそれらの前駆体を主として転写する。リボソームの 5S rRNA は他の 18S、5.8S、28S rRNA とは異なり、(c) により転写される。これらの酵素は、RNA を (d) から (e) の方向に合成していく。

真核生物のプロモーターの例として、(a) の場合をあげると、多くの場合その重要な部分は転写開始位置の上流側 24 から 32 塩基付近に存在し、(f) と呼ばれる。しかし、(f) の存在は転写開始の十分な条件ではなく、このほかに CAAT ボックスとか GC ボックスがプロモーターとして必要とされている。これらの配列は (a) 自身によって認識されるのではなく、(g) と呼ばれる多くの種類のタンパク質因子によって認識・結合され、転写を開始することができる。

遺伝子の転写調節は、プロモーターから離れた調節領域内の特定な場所に結合する (h) によって、転写制御に必要な因子の会合過程が促進または妨害される。促進するタンパク質因子を (i)、妨害するタンパク質因子を (j) という。これにより細胞内で遺伝子の発現がオンとオフに切り替えられる。遺伝子の転写調節を解析するために、目的遺伝子の代わりに、レポーター遺伝子を組換える。この組換え DNA をホストに導入し、レポーター遺伝子の発現の有無、強弱を測定することにより細胞内の目的遺伝子の発現レベル、パターン、タイミングを調べることができる。またプロモーターの作用を何十倍にも高める作用をもつ塩基配列 (k) が、転写開始点から数千塩基も離れたところに存在したり、転写開始点上流とは限らず、下流あるいは転写配列内に存在することも見いだされている。

原核生物遺伝子のプロモーターの多くには、転写開始点上流側 10 塩基付近に TATAAT、と上流側 35 塩基付近に TTGACA なる保存された (l) 配列が存在する。上流側 10 塩基付近の配列は発見者にちなんで (m) とよばれ、真核生物の (f) に相当する。

原核生物の場合 RNA の転写を担う酵素は (n) と呼ばれ、DNA を鋳型として前駆体リボヌクレオシド三リン酸を重合させるコア酵素と上流側 35 塩基付近に結合して転写開始信号の認識に関与する (o) からなる。転写は特定のヌクレオチド配列に到達すると終結する。いくつかの場合で、(p) と呼ばれるタンパク質が終結には必要とされ、DNA-RNA ハイブリッド鎖を解きほぐす作用があるとされている。

(1) 文章中の (a) から (p) に当てはまる最も適切な用語を書きなさい。

(2) 点線に関して、プロモーターのどの領域が転写調節に重要な機能をもつかを調べ

るための実験方法を2つ書きなさい。また、それぞれについて、その方法で何がわかるかを100字程度で説明しなさい。

(3) 下線に関して、本目的のためにどのような遺伝子を使用されているか。具体的な遺伝子名とその検出方法も書きなさい。

問題4. 複製に関する下記の文章を読んで、(1) から (6) の設問に答えなさい。(配点 18/100)

真核生物の染色体は、通常直鎖状の二本鎖 DNA と (ア) を主とするタンパク質から構成されている。二本鎖 DNA を複製する際には、まず、種々のタンパク質因子が DNA 合成開始点を認識し、DNA を一本鎖に開裂させる。その後、(イ) がそれぞれの一本鎖 DNA を鋳型にして、それと (ウ) 的な DNA 鎖を合成していく。この酵素の特性として、合成開始にはオリゴヌクレオチドから成る (エ) が必要であること、また合成反応は (オ) から (カ) への一方向にしか進行しないことがあげられる。このため、連続合成される (キ) 鎖と不連続合成される (ク) 鎖が合成される。直鎖状の染色体 DNA の両末端部分には、GC を多く含む反復配列で (ケ) と呼ばれる DNA 領域がある。

原核生物である大腸菌染色体は約 4.6 Mb の長さで、約 4,300 個の遺伝子を含み、大腸菌全タンパク質の平均アミノ酸数は 317 であり、複製フォークの移動速度は 1,000 ヌクレオチド/秒と考えられている。真核生物であるヒトの染色体は約 3,200 Mb の長さで、約 40,000 個の遺伝子を含み、複製フォークの移動速度は 50 ヌクレオチド/秒と考えられている。

- (1) 文章の (ア) から (ケ) に当てはまる最も適切な用語を書きなさい。
- (2) 上記のように一本鎖 DNA を鋳型にして、DNA 鎖が複製することは何と呼ぶか答えなさい。
- (3) 大腸菌染色体の複製に要する時間を分、秒単位で答えなさい。
- (4) 増殖に最も有利な条件下では、大腸菌の世代時間は約 20 分である。(3) の結果と比較して、このようになる理由を説明しなさい。
- (5) ヒト染色体が大腸菌の染色体と同様に複製されるとすれば、おおよそどれくらいの時間がかかるか、日を単位として答えなさい。
- (6) ヒトの染色体 DNA の複製は、実際には数十時間しかかからない。この短い複製時間をどのようにして達成しているのか説明しなさい。