■ 4章 ■

14. ショウジョウバエにおいて，二つの異なる遺伝子が連鎖しているかどうかを調べる方法を述べよ．
15. 大腸菌を，^{15}N を含む培地で数世代培養し，その後 14N を含む培地に移して 2 世代培養した．この大腸菌から DNA を抽出すると，比重の大きい DNA，小さい DNA，その中間の比重をもつ DNA の割合はどうなっているか．
16. 密度勾配遠心法で RNA と DNA を分離するとどのような結果が得られるか．
17. ATP を結合する酵素の活性部位に存在するアミノ酸がコドン AAA によってコードされているとする．この三つの A 塩基のうちの一つが G 塩基になる変異を導入すると，三つの変異コドン（GAA，AGA，AAG）ができる．このうちどれが酵素の機能を失うと予想されるか．
18. 制限酵素 *Not* I によって酵母 DNA を切断したときに生じる DNA 断片の概数を予想せよ．
19. ある遺伝子の cDNA クローンが単離されたとする．これがコードするタンパク質のアミノ酸配列を予想する方法を述べよ．
20. 分子クローニングにおいて，制限酵素によって生じる“粘着末端”が有用な理由を述べよ．
21. 1 個の精子の DNA を鋳型として PCR を 10 サイクル行うと，特定遺伝子配列が何コピー得られるか．30 サイクルではどうか．
22. PCR において増幅される DNA 領域は，プライマーによってどのように決定されるか．
23. 塩基組成が異なる DNA 分子は変性温度が異なる．AT 塩基対に富む DNA 分子と GC 塩基対に富む DNA 分子の変性温度はどのように異なると予想されるか．
24. 細胞の成長に関わることが予想される PFL タンパク質が核に局在することがわかったとする．このことから PFL の機能について考えられることを述べよ．
25. 哺乳類細胞で安定に維持されるクローニングベクターに必要な性質を述べよ．
26. 心筋細胞で特異的に発現していることから心臓の機能に重要であると予想している遺伝子を研究している．この仮説を検証するにはどのような実験を行えばよいか．

【解　答】

14. 二つの異なる遺伝子に変異をもつショウジョウバエを交配する．二つの遺伝子が高頻度で一緒に遺伝したらこれらの遺伝子は連鎖しており，同じ染色体上にある．
15. 半分が中間の比重の DNA で，半分が比重の小さい DNA になる．
16. リボースの方がデオキシリボースより酸素原子が 1 個多いので RNA の方が DNA より比重が大きい．
17. AAG も AAA と同じリシンをコードし，AGA はリシン同様塩基性アミノ酸のアルギニンをコードしている．一方，GAA は酸性アミノ酸のグルタミン酸をコードしているので，この場合は機能を失うと予想される．
18. *Not* I は 8 塩基認識なので，*Not* I で消化した DNA の平均鎖長は約 66 kb（4^8 = 65,536）

である．酵母のゲノムサイズは 12×10^3 kb なので，酵母のゲノム DNA を *Not* I で消化すると，約 180 断片になる．

19. 遺伝暗号がわかれば，この cDNA にコードされうる三つすべての読み枠でアミノ酸配列を予想することができる．そのうち一つだけは終止コドンが一つも現れずにアミノ酸が続くはずで，この読み枠（オープンリーディングフレーム）がこの cDNA がコードするタンパク質のアミノ酸配列に相当する．

20. 粘着末端によって DNA 末端同士が相補的塩基対合によって結合できるようになり，その後 DNA リガーゼによって共有結合で連結される．

21. 精子は一倍体なので，最初に DNA 配列を 1 コピーずつもっている．PCR では，1 サイクルごとにもとの DNA が 2 倍ずつ増幅されるので，10 サイクルでは 2^{10} 倍，すなわち約 1000 コピーになる．同様に 30 サイクルでは 2^{30} 培，すなわち 10 億コピー以上になる．

22. プライマーは，増幅させようとしている領域の両端に相補的塩基対合によりハイブリダイゼーションする．よってプライマーによって，その間の DNA 領域が合成される．

23. AT 塩基対には二つ，GC 塩基対には三つの水素結合がある．したがって，GC 塩基対の方がより安定であり，GC 塩基対に富む DNA 断片の方がより変性温度が高い．

24. PFL タンパク質の機能として，DNA の複製または転写などが可能性として考えられる．

25. 安定な形質転換体を選択することができるように，ある薬剤に対して耐性を付与する遺伝子をもたせることが必要である．

26. ES 細胞で相同組換えによりこの遺伝子を不活化し，不活性な対立遺伝子をもつマウスを作製する．できたヘテロ二倍体のマウス同士を掛け合わせてホモ二倍体のマウスが生まれなかった場合に，どの発生段階で胚性致死が起こったかがわかり，その胚を用いて心臓にどのような欠陥があるかを調べることができる．