

生体機能化学

【問1】DNAの複製およびDNAからの転写、翻訳に関する以下の文章を読んで、設問に答えよ。

DNAとRNAは共に、⁽ⁱ⁾五炭糖とリン酸が交互に重合したポリマーであり、ポリメラーゼによって、DNAは複製、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。DNA複製での伸長反応では、酵素、、、が必要であり、レプリソームがに結合してDNA二本鎖を一本鎖に解離し、⁽ⁱⁱ⁾それぞれの一本鎖に相補的なDNAを合成していく。一方、転写におけるRNAの伸長反応ではを必要としない。RNAポリメラーゼがに結合してDNA二本鎖中の一方を鋳型としてRNAを合成していく。DNAポリメラーゼとRNAポリメラーゼの反応機構は似ているが、⁽ⁱⁱⁱ⁾合成速度は異なる。

RNAには、主に、、、がある。は塩基配列からアミノ酸へ翻訳するアダプターとして機能し、はタンパク質のアミノ酸配列情報を含んでいる。タンパク質のアミノ酸配列情報は3つの塩基配列からなるコドン単位として構成され、1種類のコドンは1種類のアミノ酸を指定するが、^(iv)1種類のアミノ酸には複数のコドンが存在する。

- 1) 空欄 ~ に入る適切な語句を記せ。
- 2) 下線部(i)について、DNAとRNAを構成する五炭糖名をそれぞれ書け。
- 3) 下線部(ii)におけるラギング鎖の合成について、下記の〈語群1〉中の語句をすべて用い、また〈語群2〉中の語句からは適切なものを用いて説明せよ。

〈語群1〉

岡崎フラグメント、複製フォーク、DNAリガーゼ

〈語群2〉

DNAポリメラーゼI、DNAポリメラーゼII、DNAポリメラーゼIII、
エキソヌクレアーゼ活性、エンドヌクレアーゼ活性、
5'→3'方向、3'→5'方向、同じ方向、逆の方向

- 4) 下線部(iii)について、合成速度が小さい方のポリメラーゼを答えよ。
- 5) 下線部(iv)における複数のコドンは同義語コドンとよばれるが、コドンの5'末端側から初めの2つの塩基配列だけで特定のアミノ酸を指定できることが多い。その理由を答えよ。

【問2】図1のようなクローニングベクターに含まれる遺伝子のタンパク質 A について、以下の設問に答えよ。ただし、タンパク質 A の遺伝子は開始コドンと終止コドンを含むものとする。

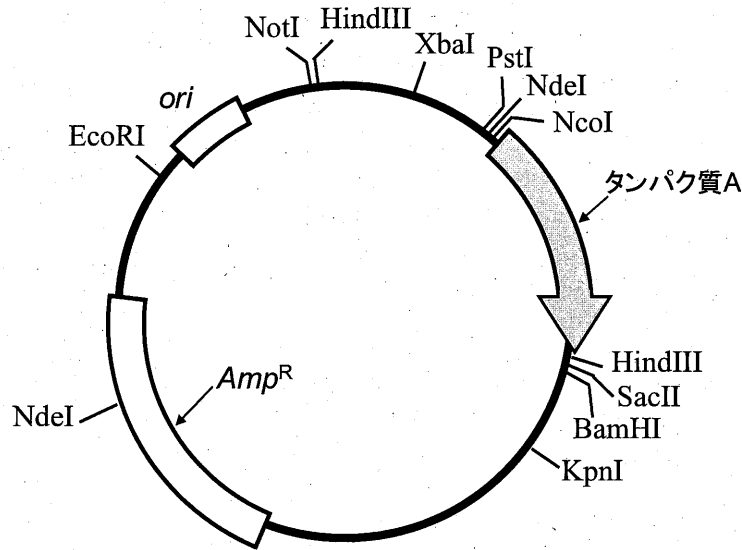


図1. クローニングベクター

- 1) 制限酵素を用いて、図1中のタンパク質 A の遺伝子断片を取得し、図2の大腸菌用の発現ベクターへ移し替えた。移し替えた発現ベクターで大腸菌を形質転換することでタンパク質 A を合成するためには、どのような制限酵素を用いる必要があるか、答えよ。また、図2中の①~③はどのような制御配列になっている必要があるかを、下の〈語群3〉からそれぞれ選び、答えよ。

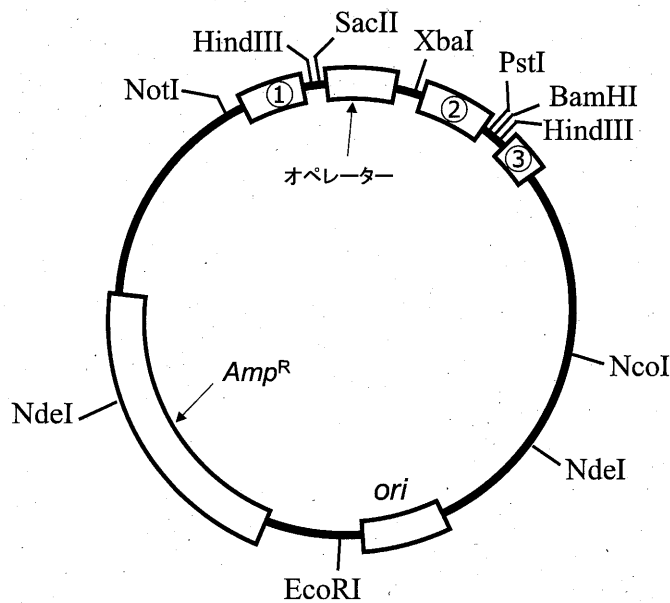


図2. 大腸菌用の発現ベクター

〈語群3〉

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) タンパク質 A 中のアミノ酸 1 残基を変異させた遺伝子断片を作成したい。変異させたアミノ酸残基を含む部分配列は-Gly-Val-Gln-Cys-Phe-Ser-Arg-Tyr-Pro-Asp-であり、その配列に対応する遺伝子の塩基配列は下に示すとおりである。以下に答えよ。

5' -GGTGTTCAATGCTTTTCAAGATACCCAGAT- 3'

- a) この部分配列のアミノ末端から 6 番目のセリン残基をチロシン残基へ部位指定突然変異法で変換したい。19 塩基からなる変異導入 DNA プライマーを設計せよ。必要であれば、表 1 を用いよ。

表 1. 遺伝暗号表

最初の位置 (5'末端)	2 番目の位置				3 番目の位置 (3'末端)
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	終止	終止	A
	Leu	Ser	終止	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

- b) a)において、DNA プライマーの設計を 1 塩基間違えてしまった。その結果、設計したプライマーを用いて PCR 法により作成したタンパク質 A の遺伝子断片を適切に大腸菌用の発現ベクターへ挿入しても、大腸菌でタンパク質が合成されなかった。どのような間違いをした可能性があるか、答えよ。