

# 「Z会の映像」 教材見本

こちらの見本は、実際のテキストから1回分を抜き出したものです。

ご受講いただいた際には、郵送にて、冊子をお届けします。

※実際の教材は、問題冊子と解説冊子に分かれています。

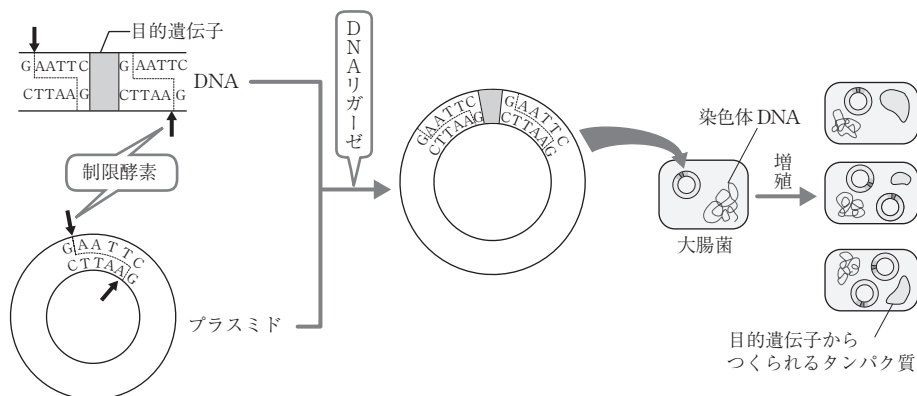
## 4章 分子生物・遺伝④

### 要点

遺伝子の組換えや、組織・細胞を人工的に培養することなど、生物の機能を利用する技術のことをバイオテクノロジーという。代表的な技術を学習する。

### 重要ポイント1 遺伝子組換え

- ① 特定の遺伝子を取り出し、別の DNA に組み込む技術を**遺伝子組換え**という。  
⇒組換えた DNA を細胞に導入し、特定のタンパク質を発現させることができる。
- ② 大腸菌を用いた遺伝子組換えの例は以下のような手順で行われる。
  - i) **制限酵素**で DNA 中の目的遺伝子を含む領域を切り出す。切断した末端と相補的な配列になる制限酵素で切断した**プラスミド**と、切り出した目的遺伝子を含む DNA を混合する。
  - ii) プラスミドと目的遺伝子を含む DNA は水素結合によりゆるく結合する。これに**DNA リガーゼ**を作用させて、切断部をつなぎ合わせる。
  - iii) 目的遺伝子を組み込んだプラスミドを、**ベクター**として大腸菌の細胞内に取り込ませる。プラスミドは大腸菌内で複製を繰り返し、また、大腸菌も分裂・増殖することで目的遺伝子が増幅される。
  - iv) 目的遺伝子は大腸菌内で転写・翻訳されて、タンパク質が合成される。



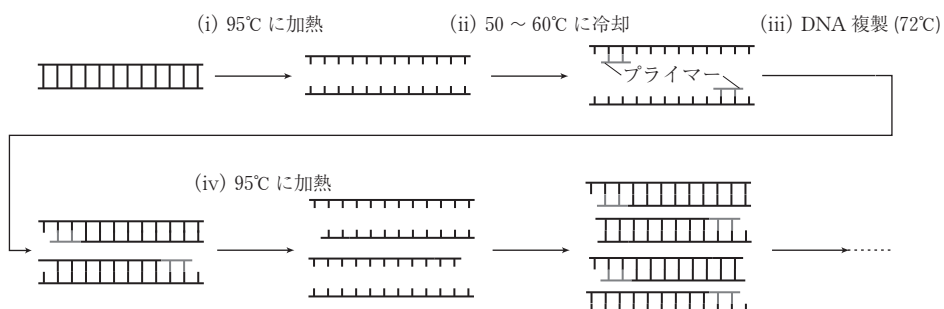
## 重要ポイント2 遺伝子組換えに用いる物質

- ① **ベクター**…外来の DNA を宿主(組換え遺伝子の導入先の細胞)に導入する働きをするもの。  
⇒宿主に取り込まれやすい、宿主に入ったことを確認する目印となる遺伝子(レポーター遺伝子)をもっている、複数の制限酵素の切断点をもつ、などがベクターの条件である。
- ② **制限酵素**…ある特定の塩基配列を認識して DNA を切断する働きをもつ酵素。  
⇒制限酵素の種類によって、認識して切断する塩基配列が異なる。  
$$\begin{array}{ccc} EcoRI & 5'-G \underline{AATTC}-3' & HpaI & 5'-GTT \underline{A}AC-3' \\ & 3'-CTTAA \underline{G}-5' & & 3'-CAA \underline{T}TG-5' \\ & \text{切断} & & \text{切断} \end{array}$$
- ③ **DNA リガーゼ**…DNA をつなぎ合わせる働きをする酵素。  
⇒一方の DNA 鎖の 3' 末端のヒドロキシ基(-OH 基)と、もう一方の DNA 鎖の 5' 末端のリン酸を結合させる。
- ④ **抗生物質**…微生物およびその他の生物によって合成され、生物の生理活性に影響を与える物質。遺伝子組換えでは、目的遺伝子が組み込まれたかどうかの選択に応用する。  
⇒このように、目印とする遺伝子を**レポーター遺伝子**という。

## 重要ポイント3 PCR 法 (ポリメラーゼ連鎖反応法)

- ① 同じ塩基配列をもった DNA 断片を大量に複製する(増幅する)手法。
- ② 増幅したい DNA 断片, DNA ポリメラーゼ, 4 種類のヌクレオチド, プライマーなどをチューブに入れ, 次の反応を行わせる。
  - i) DNA を 95°C に加熱して水素結合を切断し, 1 本鎖にする。
  - ii) 50 ~ 60°C に温度を下げ, プライマーを 1 本鎖 DNA に結合させる。
  - iii) DNA ポリメラーゼが働く温度(約 72°C)に保ち, DNA の複製を行わせる。
  - iv) 再び, DNA を 95°C に過熱して水素結合を切断し, 1 本鎖にする。

以上のサイクルを繰り返す。



## 重要ポイント4 トランスジェニック生物

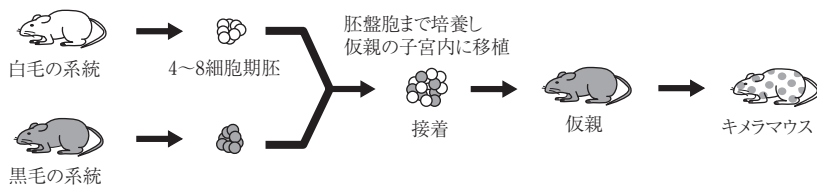
① 遺伝子組換えによって生物が本来もたない遺伝子を導入し、からだを構成するすべての細胞がその遺伝子をもつようになった生物を**トランスジェニック生物**という。

② **トランスジェニック植物**…植物に感染する細菌類の一種であるアグロバクテリウムをベクターとして利用する。

⇒アグロバクテリウムは植物細胞に感染すると、菌体内のプラスミドの一部を感染部位の植物細胞のDNAに組み込んで、腫瘍を形成させる。目的遺伝子が組み込まれた植物組織を培養して、トランスジェニック植物を得る。

③ **トランスジェニック動物**…受精卵や初期胚に、外来の遺伝子を組み込んで、トランスジェニック動物を得る。

・**キメラマウス**：遺伝子型の異なる2つ以上の個体、あるいは2つ以上の種類の細胞を合わせてつくられた1つの個体。

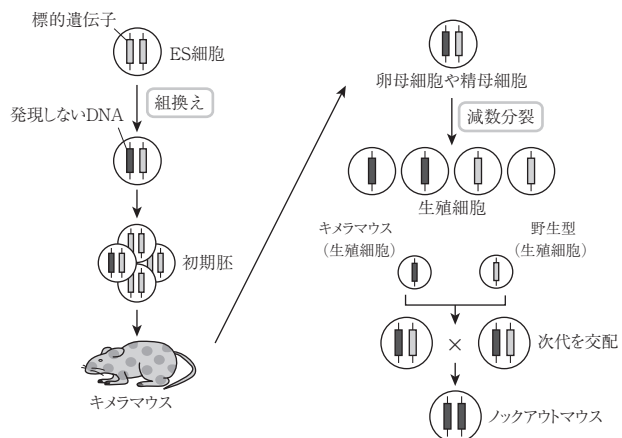


キメラマウスの作製

・**ノックアウトマウス**：特定の遺伝子が発現できないように欠損させたマウスのこと。

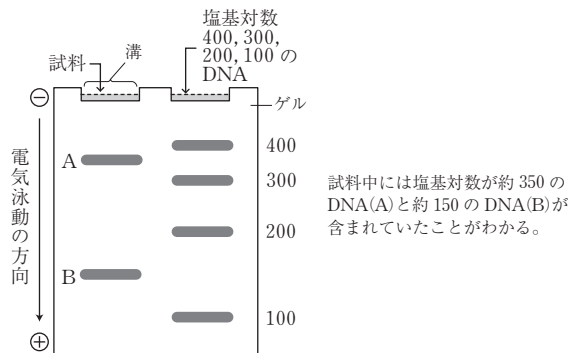
⇒標的とする特定の遺伝子(標的遺伝子)と似た塩基配列をもつが、形質を発現しないDNAを細胞内に注入する。すると、一部の細胞では標的遺伝子と注入したDNAが組換えを起こす(= 相同組換えという)。結果として、相同染色体の1本では、標的遺伝子の機能が欠損する。これを、ES細胞で行いキメラマウスをつくる。

キメラマウスと野生型のマウスを交配すると、一部の子では全身の細胞において、一方の染色体の標的遺伝子が欠損したマウスができる。こうした個体どうしを交配させると、子の中に、2本の相同染色体のどちらも標的遺伝子の機能が欠損したノックアウトマウスが生じる。



## 重要ポイント5 電気泳動

- ① 電気泳動…電荷をもった物質が、電場において一方の極に移動する現象。  
⇒混合物を含む溶液に電場をかけると、混合物中の物質は電荷の違いによって異なる位置に移動する。このことを利用してタンパク質や核酸などの物質を分離できる。
- ② DNA・RNAの電気泳動
  - i) さまざまな長さのDNA(RNA)断片を含む溶液を、アガロースやポリアクリルアミドなどのゲルの上部につくった溝(ウェル)に加え、ゲルに電圧をかける。
  - ii) DNA(RNA)はリン酸を含むため、負(-)の電荷をもつので、ゲル中を陽極(+)に向かって移動する。
  - iii) ゲルの中をさまざまな長さのDNA(RNA)断片が移動する。長いものほど陽極への移動距離が短い。



- ③ タンパク質の電気泳動  
⇒タンパク質は立体構造をとっている。まず、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)などの界面活性剤で処理する。SDSはタンパク質を変性させ、その立体構造を崩して直鎖状のポリペプチドにし、負(-)の電荷を与える働きがある。

## 重要ポイント6 cDNA

- ① mRNAに相補的な塩基配列をもつDNAを、**cDNA**(complementary DNA(相補的DNA))という。  
⇒真核生物の遺伝子には、エキソンとイントロンがある。遺伝子のDNA領域をそのまま切り出してベクターに入れても、スプライシングが正常に行われなければ正常なタンパク質は合成されない。cDNAはスプライシング後のmRNAを鋳型にするので、イントロンを含まない。
- ② cDNAの作製には**逆転写酵素**を用いる。

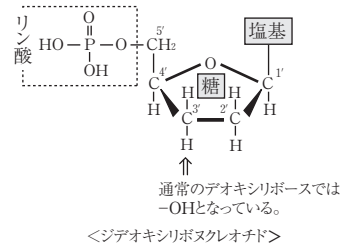
## 重要ポイント7 DNAの塩基配列決定

① **ジデオキシ法**…塩基配列を調べたいDNAに相補的なDNAを合成し、そこから塩基配列を決定する方法。

i) 2本鎖DNAを1本鎖にほどこき、DNAポリメラーゼ、プライマー、4種類のデオキシリボヌクレオチド(dNTP)などDNAの複製に必要な物質と、それぞれ異なる色の蛍光物質を結合させた4種類のジデオキシリボヌクレオチド(ddNTP)を加える。

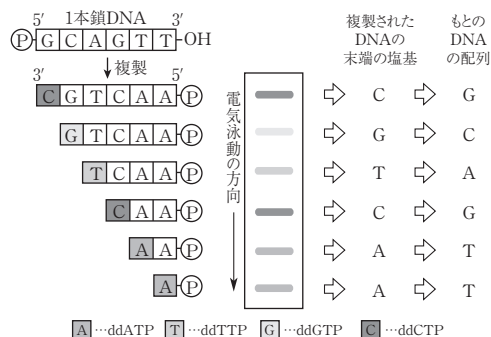
・ジデオキシリボヌクレオチド(ddNTP)

デオキシリボースでは3'位の炭素にはヒドロキシ基(-OH)があるが、ジデオキシリボースではヒドロキシ基がない。ヌクレオチド間はこのヒドロキシ基とリン酸が結合している。なお、NTPのNは4種類の塩基を示す。



ii) ddNTPの3'にはヌクレオチドが結合できない。よって、DNA複製の過程でddNTPがヌクレオチド鎖に結合すると、そこで複製が止まる。こうしてさまざまな長さのDNA断片ができる。

iii) DNA断片を電気泳動する。DNA断片の3'末端には蛍光物質があるので、蛍光を調べることで泳動位置を検出できる。



② **マクサム・ギルバート法**…DNAの5'末端を<sup>32</sup>Pで標識し、特定の塩基のところでDNAを切断して電気泳動にかけ、塩基配列を決定する方法。

⇒泳動されたDNA断片は放射線を出すため、オートラジオグラフィーによって検出できる。

## 重要ポイント8 バイオテクノロジーの応用

DNA 型鑑定 (DNA 鑑定)	個人の DNA 多型を検査することで親子関係を判断したり、個人を識別したりすること。一塩基多型や反復配列を利用して鑑定を行うことが多い。
GFP (緑色蛍光タンパク質)	オワンクラゲのもつ蛍光色素タンパク質。下村脩によって初めて精製された。GFP の遺伝子を目的タンパク質とともに組み込むことで、目的タンパク質の発現場所や時期などを調べることができる。
遺伝子診断	疾患と関連のある遺伝子の変異の有無などを調べることで、疾患の発症可能性の診断を行うこと。
遺伝子治療	患者の組織や細胞に正常な遺伝子を導入したり、欠陥のある遺伝子を修復することで疾患を治療すること。まだまだ研究段階であり、実用化が今後の課題である。
再生医療	培養した組織や細胞を利用して、疾患や事故で失った組織・器官の機能を回復させる医療のこと。皮膚移植などはすでに実用化されている。
オーダーメイド医療	個人個人のゲノム情報の違いに基づいて、薬の種類や投薬量を変える、といったオーダーメイド化された医療のこと。
遺伝子組換え作物 (GM 作物)	GM とは、Genetically Modified の略。対病性の遺伝子などを遺伝子組換えによって人工的に導入した作物のこと。組換え作物の花粉が周囲に飛散して既存の生態系を変化させることへの懸念、導入した遺伝子が作物を摂取した生体に与える影響への懸念など、その取り扱いには慎重に行う必要がある。
メタゲノム解析	ある環境に存在する微生物集団をまとめて抽出・解析する手法。たとえば腸内細菌の集団のゲノムを解析することで、一つ一つの細菌のゲノムを個別に解析するより、効率的にその特徴を分析できる。

## 問題

### ■ 演習

★★

【1】

プラスミドにタンパク質の遺伝子を挿入する遺伝子組換え操作を行った。用いたプラスミドは6000塩基対の環状DNAで、図1に示すように制限酵素A、Bによる切断箇所が1つずつあり、AとBで切断すると長さが1500塩基対と4500塩基対のDNA断片が生じる。Aの切断箇所の近くにはプロモーターがあって、挿入した遺伝子の発現に利用できる。一方、図2に示すように、タンパク質の遺伝子は両端をAで切断した1800塩基対のDNA断片〔X〕の内部にある。〔X〕の内部にはA、Bによる切断箇所はないが、制限酵素Cで切断すると700塩基対と1100塩基対のDNA断片が生じる。プラスミドはCでは切断されない。

Aで切断したプラスミドと〔X〕とを「ア」を用いて結合させ、大腸菌に取り込ませて組換えプラスミドを得たが、全てのプラスミドに〔X〕が挿入されることはない。また〔X〕が複数挿入されたプラスミドや遺伝子発現がおこらない方向に挿入されたプラスミドも生じる。

これらのプラスミドは制限酵素処理と電気泳動によって区別できる。Bで切断すると、挿入のないプラスミドでは6000塩基対のDNA断片が生じるが、〔X〕が1つだけ挿入されたプラスミドでは7800塩基対のDNA断片が生じる。電気泳動によってDNA断片が寒天ゲル中を正電極側に移動するとき、短いものほど速く移動するので、DNA断片の長さがわかる。

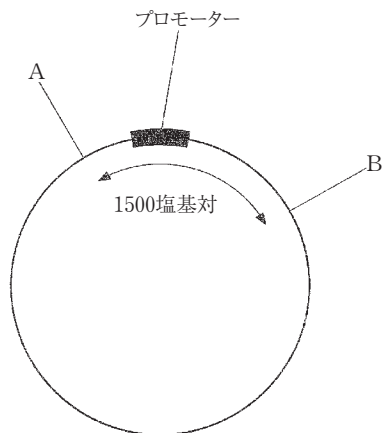


図1 プラスミドの制限酵素切断箇所ならびにプロモーターの位置を示す。

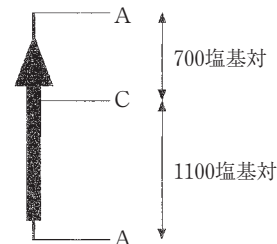


図2 DNA断片〔X〕を示す。太い矢印はタンパク質の遺伝子をあらわし、その矢の先端の部分に停止コドンがある。



問1 に当てはまる語句を答えよ。

問2 プロモーターの役割を、関わるタンパク質の名称をふくめて答えよ。

問3 [X] が1つだけ挿入されたプラスミドの中から、遺伝子発現がおこる方向に[X]が挿入されたプラスミドを選別したい。必要な制限酵素処理および選別すべきプラスミドで生じるDNA断片の長さを答えよ。

問4 制限酵素 *Alu* I は塩基配列 AGCT を認識して切断する。6000 塩基対のプラスミドを *Alu* I で処理したら、何個の DNA 断片が生じると期待されるか。

問5 電気泳動において、DNA断片が寒天ゲル中を正電極側に移動する理由を答えよ。ただし(a)~(g)よりキーワードを1つ記号で選び、これを用いて記すこと。

- (a) 塩基                      (b) 塩基対                      (c) デオキシリボース
- (d) 二重らせん              (e) ヌクレオチド              (f) ヒストン
- (g) リン酸

問6 ヒトのタンパク質を大腸菌を使ってつくらせることができるが、ヒト細胞の染色体DNAから直接遺伝子を切り出してプラスミドに挿入し、大腸菌で発現させても、正常なタンパク質がつくられない場合が多い。そのおもな理由を答えよ。

問7 医療に用いられている遺伝子組換えタンパク質の名称を1つ答えよ。またそのタンパク質をつくっている人体の部位(細胞、組織あるいは器官の名称)を答えよ。

(産業医大)

★★

[2]

オワンクラゲの緑色蛍光タンパク質(GFP)は、紫外線を当てると緑色蛍光を発する。GFPの遺伝子を、ほ乳類の細胞ではたらくプラスミドに組み込み、マウスの皮膚由来の培養細胞(繊維芽細胞)に導入した。この繊維芽細胞に紫外線を当てながら顕微鏡で観察したところ、細胞質と核のいずれも GFP の緑色蛍光を強く発していた。

一方、ほ乳類の MyoD というタンパク質は、骨格筋細胞にだけ存在している。<sup>(1)</sup> MyoD は、同じく骨格筋細胞に存在しているタンパク質 P<sub>1</sub> と P<sub>2</sub> の遺伝子の発現を引き起こす。 P<sub>1</sub> と P<sub>2</sub> は、骨格筋に特徴的なくつつかのタンパク質の遺伝子の発現を引き起こすことにより、骨格筋細胞の分化を引き起こす。

GFP の遺伝子と MyoD の遺伝子をつないでプラスミドに組み込み、マウスの繊維芽細胞に導入した。これにより細胞内では、GFP タンパク質と MyoD タンパク質が、この順序にペプチド結合でつながった融合タンパク質として、合成された。1 日後に、細胞に紫外線をあてながら、顕微鏡で観察したところ、<sup>(2)</sup> 核だけが緑色蛍光を強く発していた。 さらに数日後には、細胞は<sup>(3)</sup> 骨格筋細胞に分化していた。

問 1 下線部(1)の MyoD が機能する過程に最も関係のある語を二つ、次の(a)~(h)の中から選び、記号で答えよ。

- (a) 遺伝子組換え                      (b) DNA 複製                      (c) DNA 修復
- (d) 転写                                      (e) 翻訳                                      (f) DNA ポリメラーゼ
- (g) RNA ポリメラーゼ                      (h) 逆転写

問 2 下線部(2)のように、核だけが緑色蛍光を強く発するのはなぜか。80 字以内で答えよ。

問 3 GFP の最後のアミノ酸はリシンで、MyoD の最初のアミノ酸はメチオニンである。GFP の遺伝子と MyoD の遺伝子を図 1 の(a)~(d)のようにつないでプラスミドに組み込んだ。これらをそれぞれマウスの繊維芽細胞に導入した場合に、細胞のどの部分が緑色蛍光を強く発するか、表 1 を参考にして答えよ。ただし細胞質と核のいずれも緑色蛍光を強く発するものは「細胞質と核」、核だけが強く緑色蛍光を発するものは「核」、緑色蛍光を発しないものは「ない」と記入すること。

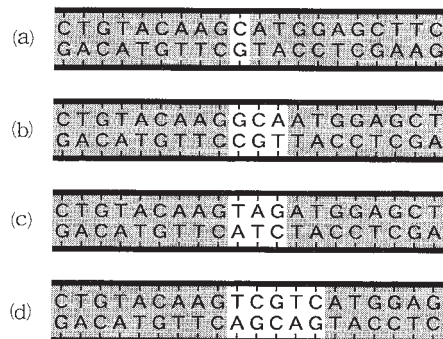


図 1 GFP の遺伝子と MyoD の遺伝子をつないだ部分  
左の網かけ部分は GFP 遺伝子の一部の塩基配列を、  
右の網かけ部分は MyoD 遺伝子の一部の塩基配列を示す。

表1 遺伝暗号(コドン) 表

UUU	フェニルアラニン	UCU	セリン	UAU	チロシン	UGU	システイン
UUC		UCC		UAC	UGC		
UUA	ロイシン	UCA	プロリン	UAA	終止	UGA	終止
UUG		UCG		UAG	トリプトファン		
CUU		CCU		CAU	ヒスチジン	CGU	アルギニン
CUC		CCC		CAC	グルタミン	CGC	
CUA	CCA	CAA	CGA				
CUG	CCG	CAG	CGG				
AUU	イソロイシン	ACU	トレオニン	AAU	アスパラギン	AGU	セリン
AUC		ACC		AAC	AGA	アルギニン	
AUA		ACA		AAA	リジン	AGG	
AUG	メチオニン	ACG	AAG	AGG			
GUU	バリン	GCU	アラニン	GAU	アスパラギン酸	GGU	グリシン
GUC		GCC		GAC	グルタミン酸	GGC	
GUA		GCA		GAA		GGA	
GUG		GCG		GAG		GGG	

問4 下線部(3)のように骨格筋細胞に分化したことは、光学顕微鏡で観察するだけで容易に判断できる。どのような基準で骨格筋細胞に分化したと判断できるか、20字以内で答えよ。

問5 GFPの遺伝子とMyoDの遺伝子をつないでプラスミドに組み込み、マウスの繊維芽細胞に導入して1日後に、次の阻害剤をそれぞれ作用させた。

- (a) DNA合成阻害剤 アフィディコリン
- (b) RNA合成阻害剤  $\alpha$ -アマンチン
- (c) タンパク質合成阻害剤 ピュロマイシン

それぞれの阻害剤により、骨格筋細胞分化が阻害される場合には○を、分化が阻害されない場合には×を答えよ。また、その理由を100字以内で答えよ。ただし、各阻害剤はa, b, cと書くこと。

(千葉大)

## 4章 分子生物・遺伝④

### 問題

#### ■演習

#### 【1】

#### ■解答

問1 DNA リガーゼ

問2 RNA ポリメラーゼが結合する領域で、その下流にある遺伝子の転写を開始させる。

問3 制限酵素処理：制限酵素 B と制限酵素 C

DNA 断片：5200 塩基対，2600 塩基対

問4 23 個

問5 記号：(g)

理由：リン酸が負に帯電しているので、DNA 断片全体としても負に帯電しているから。

問6 ヒトの DNA にはアミノ酸配列を指定するエクソンと、指定しないイントロンという領域がある。ヒトではスプライシングによってエクソンのみ連結した mRNA を合成するが、大腸菌ではスプライシングは起こらないから。

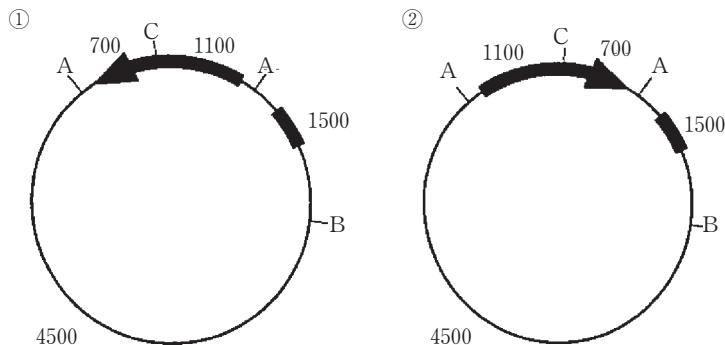
問7 インスリン；すい臓ランゲルハンス島

#### ■解説

問1 DNA を用いた実験操作では、ヌクレオチド鎖の切断には制限酵素を、連結には DNA リガーゼを用いる。しばしば、制限酵素は「はさみ」、DNA リガーゼは「のり」に例えられる。

問2 プロモーターには特定の塩基配列があり、原核生物では RNA ポリメラーゼがその塩基配列を認識して結合する。それにより、遺伝子領域に RNA ポリメラーゼが移動して転写が起こる。真核生物の場合には、RNA ポリメラーゼ以外にも基本転写因子とよばれるタンパク質があり、それらが協働することで転写が起こる。

問3 [X]の矢の先端部分に停止コドン(終止コドン)があるので、転写される方向は図2の下から上へ、となる。[X]の両端は制限酵素 A で切断されるので、下図の位置に挿入される。そのとき、[X]の向きは2通りある。



遺伝子発現が起こるためには、遺伝子の上流側の近くにプロモーターが必要である。よって、図①の向きに[X]が入らなければならない。それを見分けるには、BとCで切断すればよい。①の向きときは、BC間の短い方が2600塩基対、長い方が5200塩基対となる。②の向きときは、2200塩基対と5600塩基対となる。

問4 塩基が4つ並ぶとき、1番目にAがくる確率は $1/4$ 、1番目にAがきて2番目にGがくる確率は $1/4 \times 1/4 \dots$ と考えていくと、塩基が4つ並んだときAGCTとなる確率は $(1/4)^4 = 1/256$ である。言い換えれば、256個塩基が並んでいれば、1カ所はAGCTの並びになるということである。よって、塩基が6000個あるので

$$6000 \div 256 \approx 23.4$$

およそ23カ所で切断できる。

なお、線状のDNAであれば1カ所の切断でDNA断片は2本得られる、つまりn箇所の切断でn+1本のDNA断片が得られる。

問5 発展的な知識ではあるが、DNA断片が+極に泳動していくことは知っておくとよい。

問6 原核生物では遺伝子領域はアミノ酸配列を指定する部分がほとんどであるが、真核生物ではアミノ酸配列を指定しないイントロンとよばれる部分もある。真核生物では、転写によって合成されたmRNA前駆体にはイントロンも含まれるが、その後、スプライシングというイントロンを切り出してエキソン(=アミノ酸配列を指定する部分)をつなげる過程を経て、mRNAとなる。

問7 他に、脳下垂体前葉で合成され分泌される、成長ホルモンがある。

## 【2】

### 解答

問1 (d), (g)

問2 MyoDはタンパク質 $P_1$ と $P_2$ の転写にはたらくタンパク質であるので、翻訳されると核内に移動する。GFPタンパク質との融合タンパク質も、核内に移動したから。(77字)

問3 (a) 細胞質と核 (b) 核 (c) 細胞質と核 (d) 細胞質と核

問4 多核であり、横紋が観察される。(15字)

問5 (a) × (b) ○ (c) ○

理由：阻害剤aは複製を、bは転写を、cは翻訳を阻害する。骨格筋細胞への分化は、特定の遺伝子が転写・翻訳されて起こるので、bとcは分化が阻害される。しかし、aでは分化は阻害されない。(87字)

### 解説

問1 「遺伝子発現」とは、遺伝子が転写されて翻訳によりタンパク質が合成され、それが細胞で機能することをいう。MyoDは、タンパク質 $P_1$ と $P_2$ の遺伝子発現を引き起こし、かつ骨格筋細胞にだけ特異的に発現するタンパク質であることから、タンパク質 $P_1$ と $P_2$ の転写にはたらくタンパク質と考えられる。よって、転写とそのときにはたらく酵素であるRNAポリメラーゼを選ぶ。

問2 MyoDは転写にはたらくので、核内に局在する。翻訳は細胞質中で行われるが、その後はタンパク質がはたらく場所へと移動する。

問3 リシンのコドンAAA、AAGなので、鋳型となったDNAではTTT、TTCである。メチオニンはAUGなので、DNAではTACである。GFP遺伝子の終わりはリシンなので、TTCである下の鎖が鋳型とわかる。また、GFPタンパク質単体では、核にも細胞質にも存在できることが、問題文の1段落目からわかる。

(a) GFP遺伝子とMyoD遺伝子の間に1対挿入されているので、MyoD遺伝子の読み枠がずれる。よって、GFPタンパク質は正常に合成されるがMyoDタンパク質は異常が生じている。したがって、GFPタンパク質単体と同様、融合タンパク質は核と細胞質に存在する。

(b) GFP遺伝子とMyoD遺伝子の間には3対挿入されているので、読み枠はずれない。また、挿入された3対が指定するのはアラニンなので、GFPタンパク質とMyoDタンパク質の間にアラニンが1つ多いことになる。ただし、MyoDタンパク質は正常なので、融合タンパク質は細胞質から核へと移動する。

(c) (b)と同じで読み枠はずれないが、挿入された部分は終止コドン(UAG)である。よって、GFPタンパク質は翻訳されるがMyoDタンパク質は翻訳されない。

(d) (a)同様に読み枠がずれ、GFPタンパク質部分だけが正常となる。

問4 骨格筋細胞は、多くの細胞とは明らかに異なる特徴として、多核であること・筋原繊維が細胞質中に並んでいることがあげられる。

問5 アフィディコリンは細胞周期をS期で止めることができる。多数の細胞の細胞周期を同調させたいときなどに用いられる。アマニチンは一部のキノコがもつ毒で、RNAポリメラーゼを阻害する。ピュロマイシン(ピューロマイシン)は抗生剤として用いられる物質で、伸長中のポリペプチド鎖に結合してタンパク質合成を阻害する。