

C_b 生 物 問 題

注 意

1. 試験開始の指示があるまでこの問題冊子を開いてはいけません。
2. 解答用紙はすべて黒鉛筆または黒芯のシャープペンシルで記入することになっています。黒鉛筆・消しゴムを忘れた人は監督に申し出てください。
(万年筆・ボールペン・サインペンなどを使用してはいけません。)
3. この問題冊子は24ページまでとなっています。試験開始後、ただちにページ数を確認してください。なお、問題番号はⅠ～Ⅳとなっています。
4. 解答用紙にはすでに受験番号が記入されていますので、出席票の受験番号が、あなたの受験票の番号であるかどうかを確認し、出席票の氏名欄に氏名のみを記入してください。なお、出席票は切り離さないでください。
5. 解答は解答用紙の指定された解答欄に記入し、その他の部分には何も書いてはいけません。
6. 解答用紙を折り曲げたり、破ったり、傷つけたりしないように注意してください。
7. 計算には、この問題冊子の余白部分を使ってください。
8. この問題冊子は持ち帰ってください。

マーク・センス法についての注意

マーク・センス法とは、鉛筆でマークした部分を機械が直接よみとって採点する方法です。

1. マークは、下記の記入例のように黒鉛筆で枠の中をぬり残さず濃くぬりつぶしてください。
2. 1つのマーク欄には1つしかマークしてはいけません。
3. 訂正する場合は消しゴムでよく消し、消しくずはきれいに取り除いてください。

マーク記入例：

A	1	2	3	4	5
○	○	●	○	○	○

(3と解答する場合)

I . 次の設問 1 ～ 8 に答えよ。解答は解答用紙の所定欄にしるせ。

1. 次の①～③それぞれの性質をもつアミノ酸を、下記の a ～ g からすべて選び、その記号をしるせ。

①酸性の側鎖をもつアミノ酸

②塩基性の側鎖をもつアミノ酸

③側鎖に硫黄を含むアミノ酸

- a. アスパラギン酸 b. アルギニン c. グリシン d. グルタミン酸
e. システイン f. メチオニン g. リシン

2. 次の文を読み、下記の問 i ～ v に答えよ。

真核生物においてグルコースは呼吸によって分解されるが、その過程は解糖系、クエン酸回路、電子伝達系に分けることができる。これらの過程によって 1 分子のグルコースと 6 個の酸素分子と 6 個の水分子から、6 個の二酸化炭素分子と 12 個の水分子が生じ、その時のエネルギーを利用して最大 38 個の ATP 分子が生成される。その全体像を図 1 に示す。

- i. 解糖系において 1 分子のグルコースから差し引きで何分子の ATP が生成されるか、整数でしるせ。

- ii. 図 1 の④の反応は細胞内のどこで行われるか、次の a ～ f から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. 細胞質基質
b. ミトコンドリアの外膜
c. ミトコンドリアの内膜
d. ミトコンドリアの膜間腔
e. ミトコンドリアのマトリックス
f. ミトコンドリアのクリステ

この部分は著作権の関係により
掲載できません。

iii. 二酸化炭素が放出される段階を図1の①～⑩からすべて選び、その数字をしるせ。

iv. FADH_2 が生成される段階を図1の①～⑩からすべて選び、その数字をしるせ。

v. 脂肪は体内でグリセリンと脂肪酸に分解された後、これらの過程に組み込まれる。

脂肪酸は、直接これらの過程に組み込まれるのではなく、ある分子に変換されてから組み込まれる。変換されてできる分子として、もっとも適当なものを、次の a～d から1つ選び、その記号をマークせよ。

a. グリセルアルデヒドリン酸

b. ピルビン酸

c. アセチル CoA

d. オキサロ酢酸

3. 次の問 i～iii に答えよ。

i. 二重の生体膜をもつ細胞小器官を次の a～e からすべて選び、その記号をしるせ。

a. 核

b. ミトコンドリア

c. リボソーム

d. 小胞体

e. ゴルジ体

ii. 細胞を破碎して、細胞小器官を分離する方法に遠心分離による方法がある。植物細胞を破碎して、弱い遠心力から徐々に強い遠心力で遠心したときに、細胞小器官が遠心管の底に沈む順番としてもっとも適当なものを、次の a～f から1つ選び、その記号をマークせよ。

a. 核→葉緑体→ミトコンドリア→リボソーム

b. 核→ミトコンドリア→葉緑体→リボソーム

c. 核→葉緑体→リボソーム→ミトコンドリア

d. リボソーム→ミトコンドリア→葉緑体→核

e. リボソーム→葉緑体→ミトコンドリア→核

f. ミトコンドリア→リボソーム→葉緑体→核

- iii. 細胞小器官に関する記述としてもっとも適当なものを、次の a～e から 1 つ選び、その記号をマークせよ。
- a. 核内の染色体は、環状の DNA がヒストンと結合した状態で構成されている。
 - b. ミトコンドリアで ATP を生成するには酸素が必要だが、この反応には生体膜は関与しない。
 - c. リボソームは大サブユニットと小サブユニットからなり、大サブユニットは rRNA とタンパク質、小サブユニットはタンパク質のみで構成されている。
 - d. 小胞体は細胞内で不要な物質を分解する役割を持つ細胞小器官である。
 - e. ゴルジ体では、タンパク質の輸送や分泌の調節、タンパク質の修飾などが行われる。

4. 次の問 i・ii に答えよ。

- i. 細胞骨格に関する記述としてもっとも適当なものを、次の a～f から 1 つ選び、その記号をマークせよ。
- a. 中間径フィラメントは、もっとも太い繊維である。
 - b. 中間径フィラメントは、細胞膜直下にのみ存在し、細胞内の他の部位には分布しない。
 - c. アクチンフィラメントは、中心体を中心に細胞全体に網目状に分布している。
 - d. アクチンフィラメントは、細胞分裂時に染色体の移動を行う。
 - e. 微小管は、細胞小器官の移動に関与する。
 - f. 微小管は、細胞分裂時に収縮して細胞を二つに分ける役割を担う。
- ii. 次の a～e の細胞接着のうち、細胞を直接接着させるタンパク質にアクチンフィラメントが結合しているものを 1 つ選び、その記号をマークせよ。
- a. 密着結合
 - b. デスモソーム
 - c. 接着結合
 - d. ギャップ構造
 - e. ヘミデスモソーム

5. ある植物において、赤い花を咲かせる形質は顕性遺伝であり、花の色を決定する遺伝子には、顕性の対立遺伝子 A と潜性の対立遺伝子 a がある。AA および Aa の遺伝子型をもつ個体は赤い花を、aa の遺伝子型をもつ個体は白い花を咲かせる。この植物のある集団で、白い花を咲かせる個体 (aa) の割合が全体の 9 % であった。集団がハーディー・ワインベルグの法則に従っていると仮定したとき、ヘテロ接合体 (Aa) の個体の割合 (%) を有効数字 2 桁でしるせ。

6. 植物ホルモンと屈性に関する次の問 i・ii に答えよ。

i. 植物を横倒しにすると、根や茎は重力の影響を受けて特定の方向に屈曲して成長する。

このような性質は、細胞内の構造体と植物ホルモンのはたらきによって引き起こされると考えられている。この屈曲に関わるアミロプラストとオーキシンののはたらきに関する記述としてもっとも適当なものを、次の a～d から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

a. アミロプラストが根の先端で沈降し、その部位でオーキシシンが分解されることで屈曲が起こる。

b. オーキシシンはアミロプラストによって合成が誘導され、植物体全体に均一に拡散して屈曲を引き起こす。

c. アミロプラストが重力によって沈降し、それに応じてオーキシシンの輸送が偏ることで屈曲が生じる。

d. アミロプラストが重力と反対方向に移動し、それに応じてオーキシシンの輸送が偏ることで屈曲が生じる。

ii. 植物の茎は、光の当たる方向に屈曲して成長する光屈性を示す。この屈曲は、植物ホルモンの局所的な分布の変化により引き起こされる。光屈性の仕組みに関する記述としてもっとも適当なものを、次の a～d から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

a. アブシシン酸は光の当たらない側に移動し、その側の細胞の水分吸収を促して屈曲を引き起こす。

b. オーキシシンは光の当たらない側に移動し、その側の細胞の伸長を促進することで茎が光の方向に屈曲する。

c. 光の当たる側にアブシシン酸が移動し、オーキシシンの働きを抑制するため、当たらない側でのみ細胞の伸長が起こる。

d. アブシシン酸が光の当たらない側にオーキシシンを輸送することにより、その側の細胞の伸長を促進することで茎が光の方向に屈曲する。

7. ある地域で、かつては草原であった場所が放置され、数十年のうちに森林へと変化した。現在では、森林の上層に大きな木が茂り、林床には若い樹木が少数生育している。この林では、ヤシャブシ、コナラ、ブナ、カエデなど複数の樹種が確認されている。この森林の状態に関する記述として、もっとも適当なものを、次の a～d から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. 現在の森林は陽樹が優占する段階であり、林床では陽樹の芽生えが多数見られる。
- b. この森林では陽樹から陰樹への交代が進行中であり、将来的には陰樹が林床でも定着するようになる。
- c. この森林は極相に達しており、林床では陰樹の芽生えが旺盛に成長している。
- d. この森林の構成樹種から判断して、今後は草原へと戻る二次遷移が起これと予測される。

8. 動物の発生において、外胚葉、中胚葉、内胚葉はそれぞれ特定の器官や組織に分化する。3つの器官すべてが正しい胚葉に対応しているものを次の a～d から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. 外胚葉：神経系、表皮、血管
- b. 中胚葉：骨格筋、腎臓、心臓
- c. 内胚葉：気管上皮、肺、筋肉
- d. 外胚葉：感覚器、神経系、腎臓

Ⅱ．次の文を読み、下記の設問 1 ～ 4 に答えよ。解答は解答用紙の所定欄にしるせ。

ヒトの網膜には錐体細胞とかん体細胞と呼ばれる視細胞が分布している。かん体細胞は視物質としてロドプシンを持つ一方、錐体細胞は視物質としてフォトプシンを持っている。これらの視物質は光を吸収すると、光の情報を連絡神経細胞経由で視神経細胞へ伝え、視神経細胞の軸索を興奮させる。光の情報は視神経から視交叉を経て視索に伝達され、最終的に中枢神経の視覚野に伝えられる。錐体細胞（青錐体細胞、緑錐体細胞、赤錐体細胞）とかん体細胞のさまざまな色の光の吸収率を、図 1 に示した。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

1. 文中の下線部 1) に関する記述として正しくないものを、次の a ～ d からすべて選び、その記号をしるせ。
- a. ロドプシンは、オプシンとレチナールが結合してできた複合体である。
 - b. 光を受けると、レチナールは構造が変化する。
 - c. 構造が変化したレチナールは、オプシンとさらに強固に結合して視覚信号を伝える。
 - d. 構造が変化したレチナールは暗所でもとの構造に戻る。

2. 明るいところが急に暗くなったときの眼の網膜全体の光に対する感度と経過時間の関係を図 2 に示した。次の問 i・ii に答えよ。

i. 図 2 の中の曲線 A (実線) と曲線 B (破線) それぞれの感度の上昇に主に関与する細胞の組み合わせとして、正しいものを、次の a～e から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. A と B はともに錐体細胞
- b. A と B はともにかん体細胞
- c. A と B はともに錐体細胞とかん体細胞の両方の細胞
- d. A は錐体細胞, B はかん体細胞
- e. A はかん体細胞, B は錐体細胞

この部分は著作権の関係により掲載できません。

ii. 紫色の紙は、波長 400～450 nm の光を反射し、それ以外の光を吸収する。同様に、緑色の紙は波長 495～570 nm の光を反射し、それ以外を吸収し、赤色の紙は波長 620～750 nm の光を反射して、それ以外を吸収する。全ての色紙が充分に見える明るい部屋を完全に暗くした。その後、徐々に明るくしたときに、何色の色紙が最初に見えるか、もっとも適当なものを次の a～d から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. 紫色の色紙が最初に見える。
- b. 緑色の色紙が最初に見える。
- c. 赤色の色紙が最初に見える。
- d. 紫色、緑色、赤色の色紙が同時に見える。

3. 眼に関する次の実験を行った。この実験に関する下記の問 i・ii に答えよ。

【実験】

【手順 1】

図 3 に示すように「●」と「★」の印を 7 cm 離れたところにつけた紙（ボード）を用意した。

【手順 2】

左眼をふさぎ、右眼の前方約 20 cm の場所にボードをおき、「●」を正視する。このとき、ボードは視線に垂直になるようにする。

【手順 3】

眼を動かさないようにしてボードを前後に動かし、「★」が見えなくなるところを探す。「★」が見えなくなるところがあったら、その時の眼とボードの距離を測定する。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

i. 【手順 2】で、ふさぐ眼を「左眼」ではなく「右眼」にして同じように実験すると、どのような結果が得られると予想されるか。もっとも適当なものを、次の a～d から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. 「左眼」の時と同じ距離で「★」が見えなくなった。
- b. 「左眼」の時よりも短い距離で「★」が見えなくなった。
- c. 「左眼」の時よりも長い距離で「★」が見えなくなった。
- d. 「左眼」の時とは異なり、「★」が見えなくなることはなかった。

ii. 【手順 3】で、ボードと眼の距離が 28 cm の時に、「★」が見えなくなった。眼球は球体での直径が 2.0 cm だとすると、黄斑と盲斑の距離は何 cm になるか。網膜は曲面であるが、網膜の中の黄斑と盲斑の間は、ボードと平行な平面と考えて計算せよ。有効数字 2 桁でしるせ。

4. 視神経からの情報を伝達する経路に切断などの異常が起こると、見え方が変わる。下記の i ~ iii に示すような見え方になったとき、図 4 の中のどこに異常（切断）が起こったと考えられるか。もっとも適当なものを、図 4 の①～⑤から 1 つずつ選び、それぞれの番号をマークせよ。ただし、異常が起こった場所は 1 か所とする。

i. 右眼が見えなくなった。

ii. 両眼の左半分が見えなくなった。

iii. 両眼の外側（耳側）半分が見えなくなった。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

Ⅲ．次の文を読み、下記の設問 1 ～ 6 に答えよ。解答は解答用紙の所定欄にしるせ。

選択的スプライシングは、1つの遺伝子から転写された前駆体 mRNA を構成する複数のエキソンやイントロンのうち、連結されるエキソンの組み合わせが、細胞の状態などに応じて変化する仕組みである。この結果、同じ遺伝子からでも、エキソンの組み合わせの違いによって、異なる働きをもつタンパク質をつくる mRNA ができることがある。あるいは、つくるタンパク質は同じでも、翻訳されない部分（非翻訳領域：UTR）の配列が異なる mRNA ができる場合もある。このように、同じ遺伝子から転写された、部分的に配列の異なる mRNA を mRNA アイソフォームという。以下、mRNA アイソフォームを単にアイソフォームと表記する。

この選択的スプライシング機構により、1つの遺伝子から、構造や機能が異なるタンパク質や、翻訳効率の異なる mRNA を柔軟に産生できるようになる。この機構は、多細胞真核生物の複雑な細胞機能や組織の形成を支えるが、異常が生じた場合には疾患の原因となることもある。

ある動物の分化細胞由来の培養細胞では、通常の培養条件においては、遺伝子 G から転写された前駆体 mRNA が選択的スプライシングを受け、結果としてアイソフォーム A とアイソフォーム B が 1 : 1 の比率で生成される。2つのアイソフォームは同じタンパク質（タンパク質 G）に翻訳されるが、3'末端側の非翻訳領域（3'UTR）の配列の一部が異なっており、アイソフォーム A の 3'UTR には低分子量の RNA（低分子 RNA C）と相補的な塩基配列が1つ存在する（図）。なお、5'UTR の配列はアイソフォーム A とアイソフォーム B で同じである。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

この低分子 RNA C は、DNA から転写されてできる、タンパク質をつくらない短い RNA (22 塩基) である。培養細胞では低分子 RNA C が作られ、細胞質基質で働く。具体的には、相補的な配列をもつ mRNA と塩基対を形成して強く結合し、結合した mRNA の翻訳を完全に抑制する。細胞質中で低分子 RNA C と結合できる mRNA は、遺伝子 G のアイソフォーム A のみであり、低分子 RNA C はアイソフォーム A の翻訳抑制以外の機能をもたないものとする。低分子 RNA C は、1つの結合部位に対して1分子が結合し、いったん結合した後に解離することはないものとする。また、低分子 RNA C が結合していない1分子のアイソフォーム A と1分子のアイソフォーム B からは同じ速度でタンパク質 G が作られる。

研究者はこの培養細胞を用いて、以下にしめす各条件で細胞内のタンパク質 G の量を調べた。なお、各条件での培養の経過において、遺伝子 G のアイソフォーム A とアイソフォーム B の細胞質中の分子数の合計は変化せず、また、低分子 RNA C の細胞質中の分子数も変化しないものとする。

【条件 1】 (通常の培養条件)

選択的スプライシングによって、遺伝子 G からアイソフォーム A とアイソフォーム B が

1 : 1 の比率で生成される。この比率はそのまま細胞質中でのアイソフォーム A とアイソフォーム B の mRNA の存在比となる。

1 個の細胞の細胞質に存在するアイソフォーム A とアイソフォーム B の分子数の合計は 900 であり、低分子 RNA C の分子数は 500 である。

【条件 2】

選択的スプライシングによって、遺伝子 G から生成されるアイソフォーム A とアイソフォーム B の比率が 2 : 1 に変化するような条件。このとき、細胞質中に存在するアイソフォーム A とアイソフォーム B の総数、および低分子 RNA C の分子数は【条件 1】と同じとする。

【条件 3】

選択的スプライシングによって、遺伝子 G から生成されるアイソフォーム A とアイソフォーム B の比率が 1 : 2 に変化するような条件。このとき、細胞質中に存在するアイソフォーム A とアイソフォーム B の総数、および低分子 RNA C の分子数は【条件 1】と同じとする。

【条件 4】

細胞質中の低分子 RNA C の分子数が通常の培養条件での $1/5$ に低下するような条件。ただし、細胞質中に存在するアイソフォーム A とアイソフォーム B の総数、および生成されるアイソフォーム A とアイソフォーム B の比率は【条件 1】と同じとする。

【条件 5】

低分子 RNA C を転写するもとなる DNA に変異が生じ、低分子 RNA C の配列の一部が変化し、標的 mRNA と結合できなくなるような条件。ただし、細胞質中に存在するアイソフォーム A とアイソフォーム B の総数、および生成されるアイソフォーム A とアイソフォーム B の比率は【条件 1】と同じとする。

1. 核内でスプライシングによりできた成熟 mRNA はある構造を通じて細胞質基質に移動する。この構造は何とよばれるか。もっとも適当な語句をしるせ。

2. 【条件 2】では、細胞内のタンパク質 G の量は、【条件 1】と比べてどのように変化する

ると予想されるか。その理由も含めてもっとも適当なものを、次の a～e から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. 低分子 RNA C の結合部位をもたないアイソフォーム B の数は減少するが、その分アイソフォーム A の数が増加するため、タンパク質量は変わらない。
- b. アイソフォーム A の数は増加するが、低分子 RNA C により翻訳が完全に抑制されるため、翻訳可能な成熟 mRNA はアイソフォーム B のみとなり、タンパク質量は減少する。
- c. アイソフォーム B と、低分子 RNA C が結合していないアイソフォーム A の合計が【条件 1】におけるアイソフォーム B の数を下回るため、タンパク質量は減少する。
- d. 低分子 RNA C によりアイソフォーム A の翻訳は抑制されるが、アイソフォーム A の数が低分子 RNA C を上回るため、翻訳可能な成熟 mRNA の総数は増加し、タンパク質量は増加する。
- e. 低分子 RNA C が結合していないアイソフォーム A とアイソフォーム B の合計が【条件 1】におけるアイソフォーム B の数を上回るため、タンパク質量は増加する。

3. 【条件 3】では、細胞内のタンパク質 G の量は【条件 1】と比べてどのように変化すると予想されるか。その理由も含めてもっとも適当なものを、次の a～e から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. アイソフォーム A の割合が減少するため、低分子 RNA C が結合する成熟 mRNA が少なくなり、全体として翻訳可能な mRNA が減るので、タンパク質量は減少する。
- b. アイソフォーム A が減少し、その分アイソフォーム B が増えるが、低分子 RNA C の数は十分に多いため、全体として翻訳される mRNA 量は変わらず、タンパク質量は変わらない。
- c. アイソフォーム A はすべて低分子 RNA C により翻訳が抑制される一方、翻訳可能であるアイソフォーム B が【条件 1】より多いため、タンパク質量は増加する。
- d. 低分子 RNA C の数が成熟 mRNA 全体より少ないため、一部のアイソフォーム A が翻訳されてしまい、結果としてタンパク質量は増加する。
- e. アイソフォーム A が減少したことで低分子 RNA C が余剰となり、アイソフォーム B の翻訳まで効率が下がるため、タンパク質量は減少する。

4. 【条件 4】では、細胞内のタンパク質 G の量は【条件 1】と比べてどのように変化すると予想されるか。その理由も含めてもっとも適当なものを、次の a～e から 1 つ選び、

その記号をマークせよ。

- a. 低分子 RNA C が減少したことで、翻訳が抑制されないアイソフォーム A が一部翻訳されるようになるが、全体として翻訳可能な成熟 mRNA の総数は【条件 1】と同程度のため、タンパク質量は変わらない。
- b. 低分子 RNA C の分子数が減少しても、翻訳抑制の影響を受けないアイソフォーム B の翻訳量が一定であるため、全体のタンパク質量は変わらない。
- c. 低分子 RNA C が減少すると、本来抑制されるはずのアイソフォーム A の翻訳が不安定になり、翻訳量がむしろ低下するため、全体のタンパク質量は減少する。
- d. 低分子 RNA C の減少により、アイソフォーム B の翻訳が活性化するため、タンパク質量は増加する。
- e. 低分子 RNA C の減少により、翻訳抑制を受けなくなったアイソフォーム A と、もともと翻訳されるアイソフォーム B の両方が翻訳されるため、タンパク質量は増加する。

5. タンパク質 G の量が多い順に、【条件 1】～【条件 5】を並べたものとして、もっとも適当なものを、次の a～f から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. 【条件 5】 → 【条件 4】 → 【条件 3】 → 【条件 1】 → 【条件 2】
- b. 【条件 5】 → 【条件 3】 → 【条件 4】 → 【条件 2】 → 【条件 1】
- c. 【条件 4】 → 【条件 3】 → 【条件 5】 → 【条件 1】 → 【条件 2】
- d. 【条件 4】 → 【条件 5】 → 【条件 3】 → 【条件 2】 → 【条件 1】
- e. 【条件 3】 → 【条件 5】 → 【条件 4】 → 【条件 1】 → 【条件 2】
- f. 【条件 3】 → 【条件 4】 → 【条件 5】 → 【条件 2】 → 【条件 1】

6. 遺伝子 G は、発生初期には細胞の増殖や運動性を促進することで、組織形成に重要な役割を果たしている。一方で、成長した個体の分化細胞においてこの遺伝子の発現が過剰になると、がんの発生や転移を促進することが知られている。がんの発生や転移を促進してしまう条件として適当なものを、次の a～d からすべて選び、その記号をしるせ。

- a. 選択的スプライシングにおいて、アイソフォーム A の割合が減少し、アイソフォーム B の割合が増加する。
- b. 選択的スプライシングにおいて、アイソフォーム B の割合が減少し、アイソフォーム A の割合が増加する。
- c. 低分子 RNA C が発現しなくなる。
- d. 低分子 RNA C の発現が増加する。

IV. 次の文を読み、下記の設問 1 ～ 5 に答えよ。解答は解答用紙の所定欄にしるせ。

2.0 kbp の遺伝子 X (1 kbp は 1,000 塩基対を示す) をプラスミド (ベクター) に組み込むための以下の実験操作を計画した。操作の概略を図 1 に示す。この実験で用いるベクターは、全長 4.0 kbp であり、誘導物質 A によって転写が促進されるプロモーター P の配列、および抗生物質 B に対する耐性の遺伝子を含む。遺伝子 X の両端付近の配列と制限酵素地図を図 2 および図 3 に示す。ベクターの制限酵素地図を図 4 に示す。ただし、各酵素による反応は、それぞれに適切な条件で行う。

【操作 1】

遺伝子 X を PCR で増幅し、PCR 産物の両端とベクターのそれぞれを制限酵素 SmaI で切断した後、この反応液と酵素を混ぜ、しばらく置く (①)。
1)

【操作 2】

①の反応後の液を大腸菌と混ぜ、プラスミドを保持する大腸菌を選択するために、適切な抗生物質 B を含む寒天培地に撒き、一晚 37℃ で保温する (②)。

【操作 3】

②の寒天培地に生えたコロニーを複数選び、それらのコロニーの大腸菌を培養してプラスミドを抽出する。

【操作 4】

抽出したプラスミドを、制限酵素 SmaI, EcoRI, HindIII, SalI のいずれか、またはこれらを組み合わせて切断する。ベクターには SmaI, EcoRI, HindIII が認識する配列が 1 カ所ずつ含まれるが、遺伝子 X にはこれらの酵素の認識配列は無い。SalI が認識する配列は遺伝子 X に 1 カ所あるが、ベクターには無い。各制限酵素が認識する配列を図 5 に示す。

【操作 5】

切断したプラスミドをアガロース電気泳動により解析する。

【操作 6】

遺伝子 X が正しく組み込まれたと思われるプラスミドを選び、サンガー法により DNA 配列に間違いがないことを確認する。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

1. PCR 反応では、プライマーの 3' 末端の 15 塩基程度が鋳型と相補的であれば、目的の遺伝子が増幅できる。また、プライマーの配列中に制限酵素の認識部位があれば、PCR により増幅された DNA はその制限酵素で切断される。ただし、制限酵素の認識部位が DNA の末端にあっても制限酵素で完全に切断されるものとする。PCR によって、遺伝子 X を増幅し、かつ両端に SmaI の認識配列を導入するためのプライマーを次の a～h からすべて選び、その記号をしるせ。

- a. 5'-cccgggatgttgaaaaatttcgtgg-3'
- b. 5'-atgttgaaaaatttcgtggcccg-3'
- c. 5'-cccgggtacaacttttttaaagcacc-3'
- d. 5'-tacaacttttttaaagcacc-3'
- e. 5'-acctgttcagcgaagagtaacccggg-3'
- f. 5'-cccgggacctgttcagcgaagagtaa-3'
- g. 5'-cccgggttactcttcgctgaacaggt-3'
- h. 5'-ttactcttcgctgaacaggtcccggg-3'

2. 下線部 1) について、反応液と混ぜた酵素の名称をしるせ。

3. 生じた複数のコロニーから抽出したプラスミドを制限酵素で切断し、電気泳動を行った。電気泳動後のゲルを DNA の染色液で染めると、DNA をバンドとして観察できる。このバンドのパターンからプラスミドは 3 つのグループに分かれることが分かった。それぞれのグループに属するプラスミドを各制限酵素と反応させた後、電気泳動で解析した結果が図 6 である。これらの結果から、どのようなことが考えられるか、もっとも適当なものを次の a ～ f から 1 つ選び、その記号をマークせよ。

- a. グループ 1 のプラスミドを保持する大腸菌に誘導物質 A を加えると、遺伝子 X が発現する。
- b. グループ 2 のプラスミドを保持する大腸菌に誘導物質 A を加えると、遺伝子 X が発現する。
- c. グループ 3 のプラスミドを保持する大腸菌に誘導物質 A を加えると、遺伝子 X が発現する。
- d. グループ 1 のプラスミドを保持する大腸菌のみ、誘導物質 A を加えても遺伝子 X は発現されない。
- e. グループ 2 のプラスミドを保持する大腸菌のみ、誘導物質 A を加えても遺伝子 X は発現されない。
- f. グループ 3 のプラスミドを保持する大腸菌のみ、誘導物質 A を加えても遺伝子 X は発現されない。

この部分は著作権の関係により掲載できません。

電気泳動を行った結果、NC はベクターを制限酵素と反応させずに電気泳動したサンプル。制限酵素で切断していない環状のプラスミド DNA と、制限酵素によって 1 カ所切断した結果生じる直鎖状のプラスミド DNA とは泳動度が異なる。

4. 遺伝子 X の産物であるタンパク質 X の C 末端側の機能を調べるために、C 末端の領域を欠失した変異タンパク質 X を合成し、野生型タンパク質 X と機能の比較を行うことを計画した。そのために、【操作 1】の PCR 反応によって増幅された DNA 断片を、SmaI と SalI で切断した。次に、ベクターを SmaI と XhoI で切断した後、SmaI と SalI で切断した DNA 断片をベクターの SmaI と XhoI に挟まれた 0.3 kbp の部分と入れ替えたプラスミドを作成した。ベクターには XhoI が認識する配列が 1 カ所含まれるが、遺伝子 X には XhoI の認識配列は無い。正しいプラスミドが得られたかを、制限酵素によるプラスミドの切断と電気泳動で確認したい。どの制限酵素の組み合わせと断片の大きさであれば、正しいプラスミドができたか判断できるか。記述として正しいものを、次の a ~ f からすべて選び、その記号をしるせ。

- a. SmaI と SalI で切断し、1.5 kbp の断片が得られた。
- b. SmaI と EcoRI で切断し、0.5 kbp の断片が得られた。
- c. SmaI と XhoI で切断し、0.3 kbp の断片が得られた。
- d. SmaI と HindIII で切断し、1.7 kbp の断片が得られた。
- e. EcoRI と SalI で切断し、2.0 kbp の断片が得られた。
- f. EcoRI と HindIII で切断し、2.2 kbp の断片が得られた。

5. 塩基配列を解析するサンガー法では、解析したい DNA の相補鎖にプライマーを結合させ、DNA の合成を行う。この際、通常のヌクレオチドに加えて、特殊なヌクレオチドを少量加える。この特殊なヌクレオチドが取り込まれた場合、そこで DNA 合成が止まる。これを利用して DNA の塩基配列を解析することができる。DNA 合成が止まる理由を、特殊なヌクレオチドの構造の観点から、2 行以内でしるせ。

【以下余白】

