

生体機能化学

【問1】以下の文章を読んで、設問に答えよ。

生体では、DNA がもつ遺伝子情報に従って特定のアミノ酸配列をもつタンパク質が合成される。DNA は塩基の部分が異なった 種のデオキシリボヌクレオチドからなるポリマーであり、コドンと呼ばれる 個の連続した塩基配列の単位1つが 個のアミノ酸を指定する。

遺伝子情報は、DNA から mRNA へ転写された後、リボソームなどによってアミノ酸配列へ翻訳される。大腸菌では、(i)リボソームは mRNA と複合体を形成して、 を指定するコドンを開始点としてタンパク質を合成していく。(ii) トランスロケーションをおこしながら伸長反応が進んでいき、(iii) 終結段階でタンパク質の合成が終わり、リボソームは mRNA から解離する。

タンパク質の合成速度は転写と翻訳の段階で主に調節されており、(iv)大腸菌では培地成分の変化によって合成速度が変化するタンパク質がある。

- 1) 空欄 ～ に入る最も適切な数字を記せ。
- 2) 空欄 に入る適切なアミノ酸を書け。
- 3) 下線部(i)について、大腸菌における複合体の形成過程を下記の語群をすべて使って説明せよ。

<語群>

30S サブユニット, 50S サブユニット, SD 配列, 開始コドン, rRNA

- 4) 下線部(ii)について、下記の語群をすべて使って説明せよ。

<語群>

A 部位, E 部位, P 部位, コドン

- 5) 下線部(iii)について、タンパク質の合成が終結する機構を説明せよ。
- 6) 下線部(iv)について、*lacZ*, *lacY*, *lacA* の遺伝子がコードするタンパク質の合成が促進されるとき培地成分中におけるグルコースとβ-ガラクトシドの存在関係について、下記のうち、最も適切なものを1つ選び、答えよ。

- ① グルコースとβ-ガラクトシドが共に多く存在する
- ② グルコースは多く存在するが、β-ガラクトシドは少ない
- ③ グルコースは少ないが、β-ガラクトシドは多く存在する

【問2】5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトシド(X-gal)を青色の5-ブロモ-4-クロロ-3-ヒドロキシインドールへ分解するβ-ガラクトシダーゼがコードされた遺伝子を含むプラスミド(ベクター, 図1)を用いて, 大腸菌でのタンパク質発現を考える。以下の設問に答えよ。

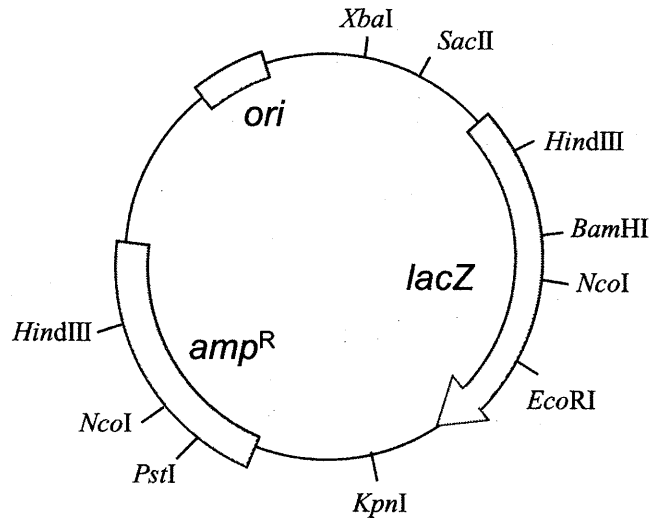


図1. プラスミド(ベクター)

- 1) プラスミドに, 一つの mRNA から2つのタンパク質 A と B が合成される遺伝子断片を挿入したい。タンパク質 A および B の遺伝子配列と下の語群中の制御配列をどのように5'末端側から並べればよいか, 答えよ。ただし, 語群中には使わない配列も含み, 必要ならば複数回使用してもよい。

<語群>

開始コドン, 終止コドン, 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) 5'末端を制限酵素 I, 3'末端を制限酵素 II で処理した付着末端をもつ1)の遺伝子断片と, 制限酵素 I と II で処理した図1のプラスミドを連結酵素によって連結反応させた。そして, そのプラスミドで大腸菌を形質転換し, X-gal とアンピシリンを含む寒天培地プレートで培養したところ, コロニーは形成され, その色はすべて青色であった。以下の a) と b) に答えよ。ただし, プラスミドは用いた制限酵素で100%切断されているとする。

a) 用いた制限酵素 I と II はなにか, 答えよ。

b) I と II とは別な2つの制限酵素を用いたとき, 青色にならない(白色)コロニーが形成された。用いた2つの制限酵素はなにか, 可能性のあるすべての組み合わせを答えよ。また, コロニーが青色にならない理由も答えよ。ただし, 1)の遺伝子断片は用いた制限酵素の処理で付着末端が形成されたとする。