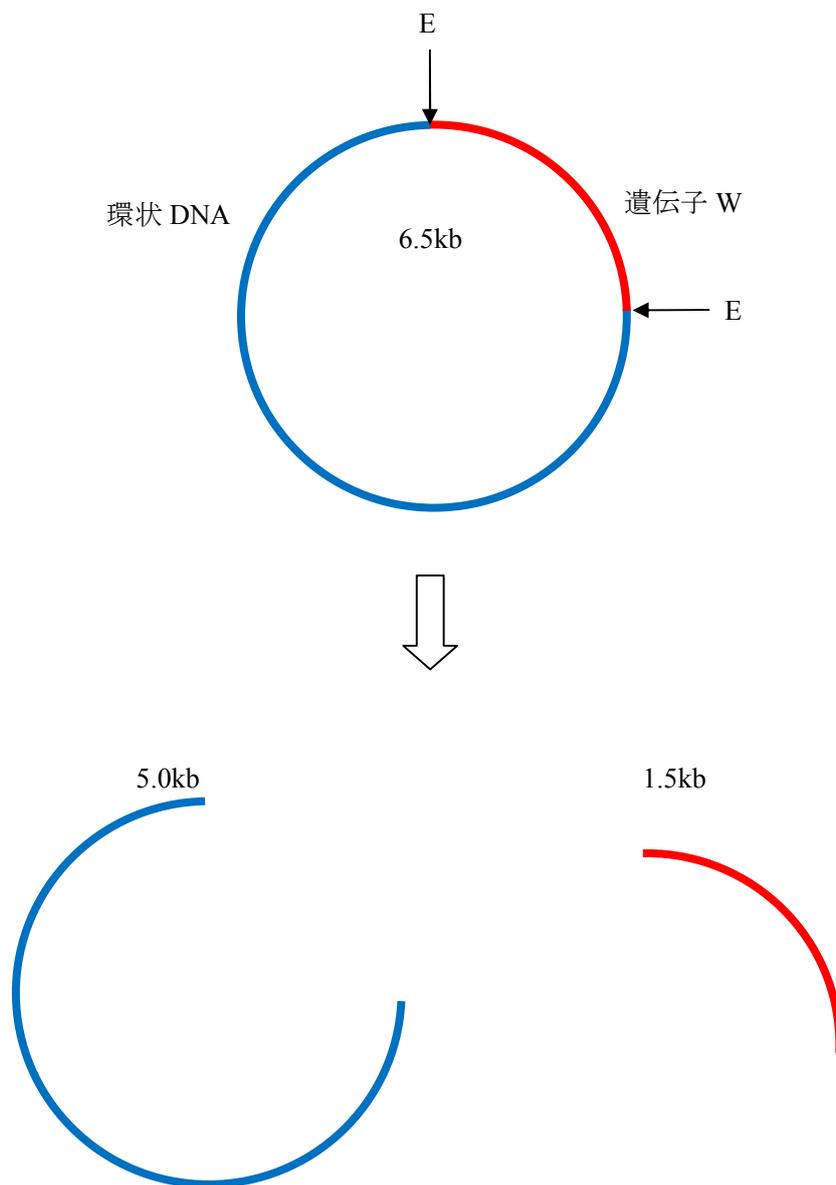


77. 制限酵素の働き

問 1

実験 1

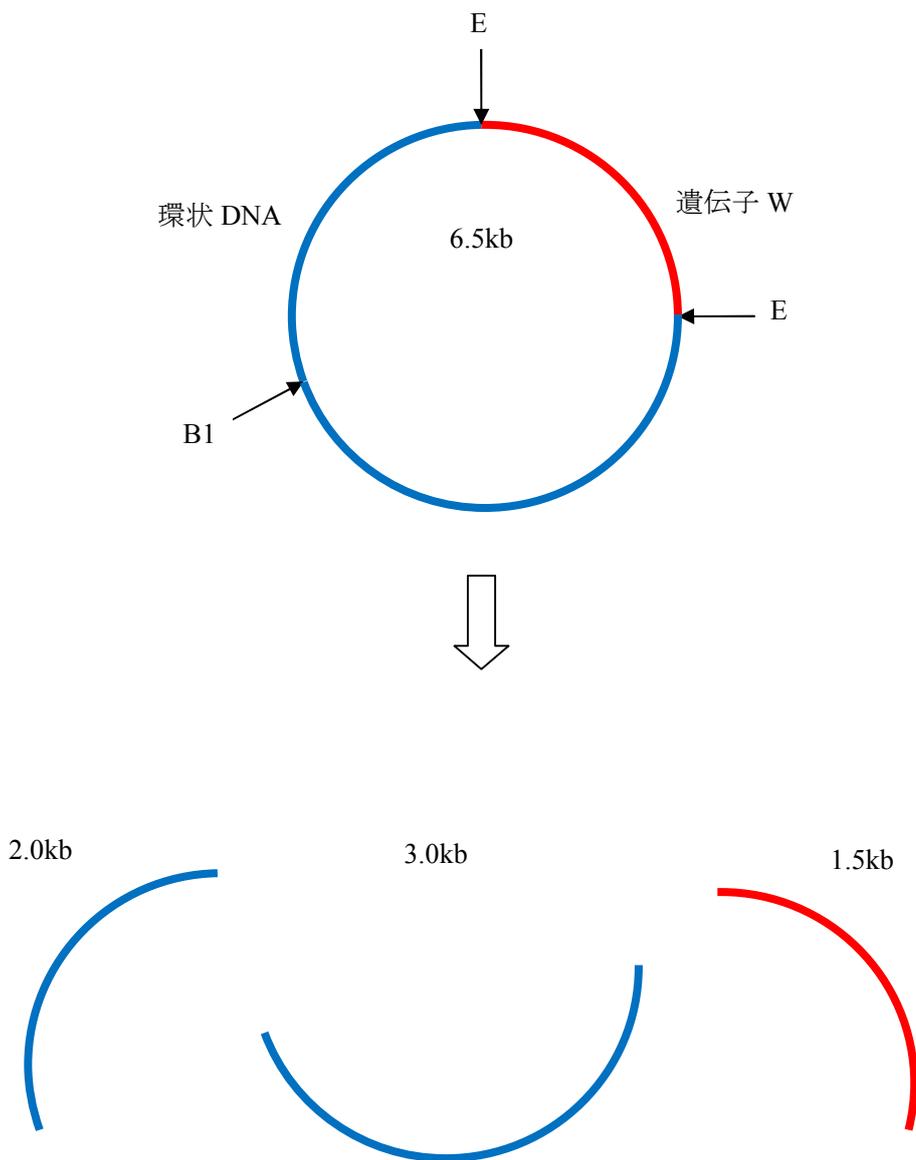
E で切断後の電気泳動により環状 DNA (5.0kb) と遺伝子 W (1.5kb) が分離される。



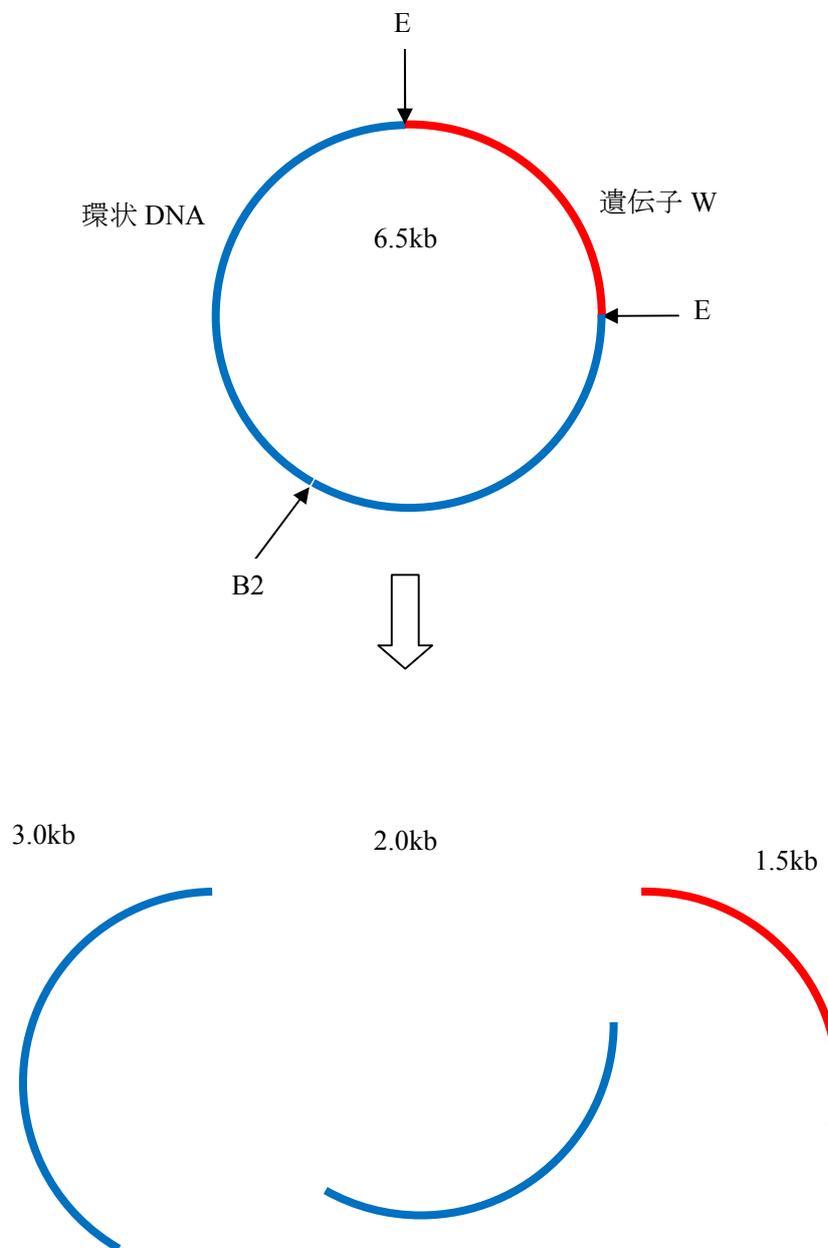
実験 2

E と B で切断後の電気泳動により 3.0kb, 2.0kb, 1.5kb の DNA 断片が分離される。
 E による切断で遺伝子 W (1.5kb) の断片が生成するが、
 それが B がさらに切断するとしたら、1.5kb の DNA 断片が生じないはずである。
 よって、B が切断したのは環状 DNA (5.0kb) であり、
 切断部位については、次の 2 つの場合が考えられ、それぞれの部位を B1, B2 とする。

場合 1



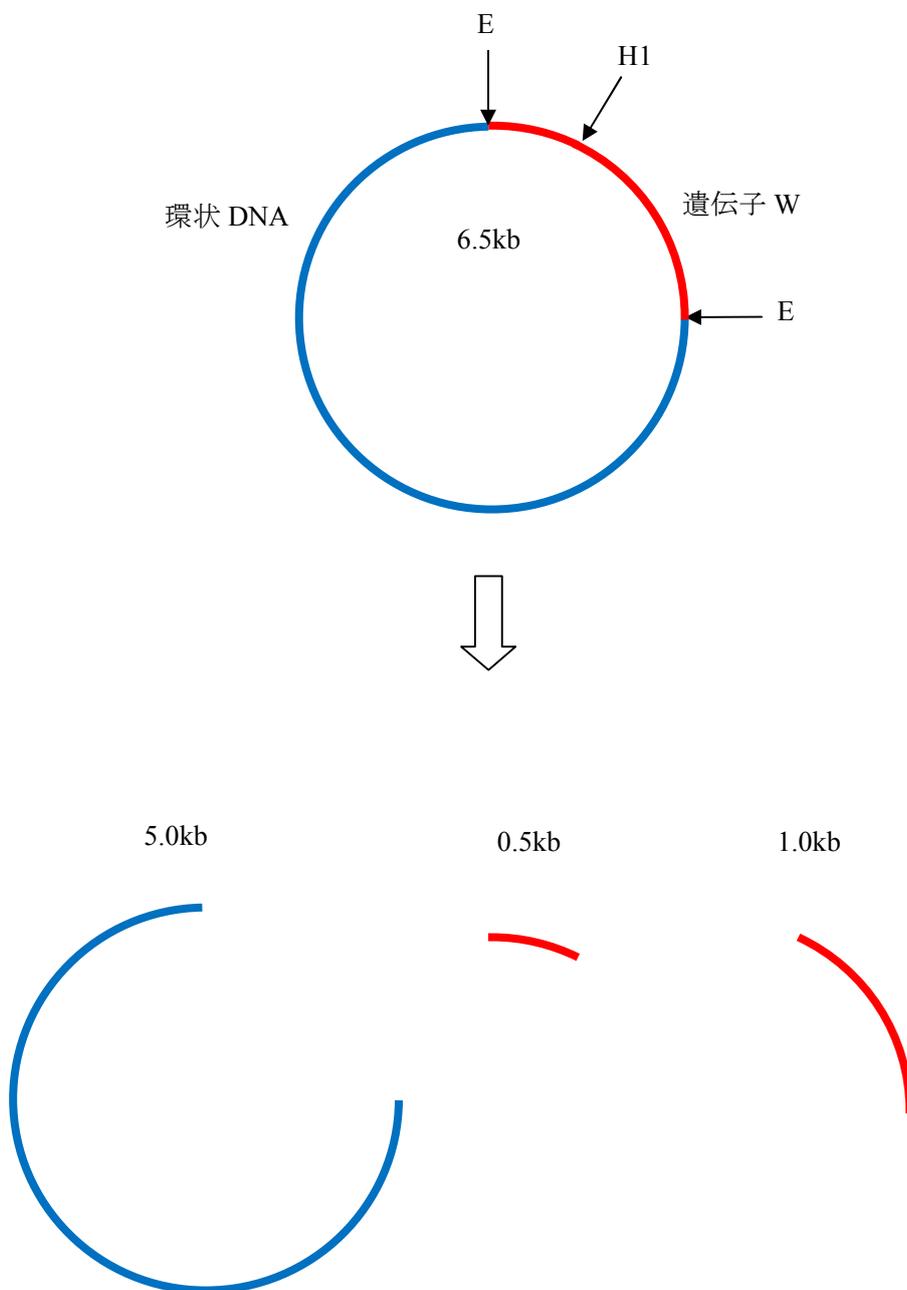
場合 2



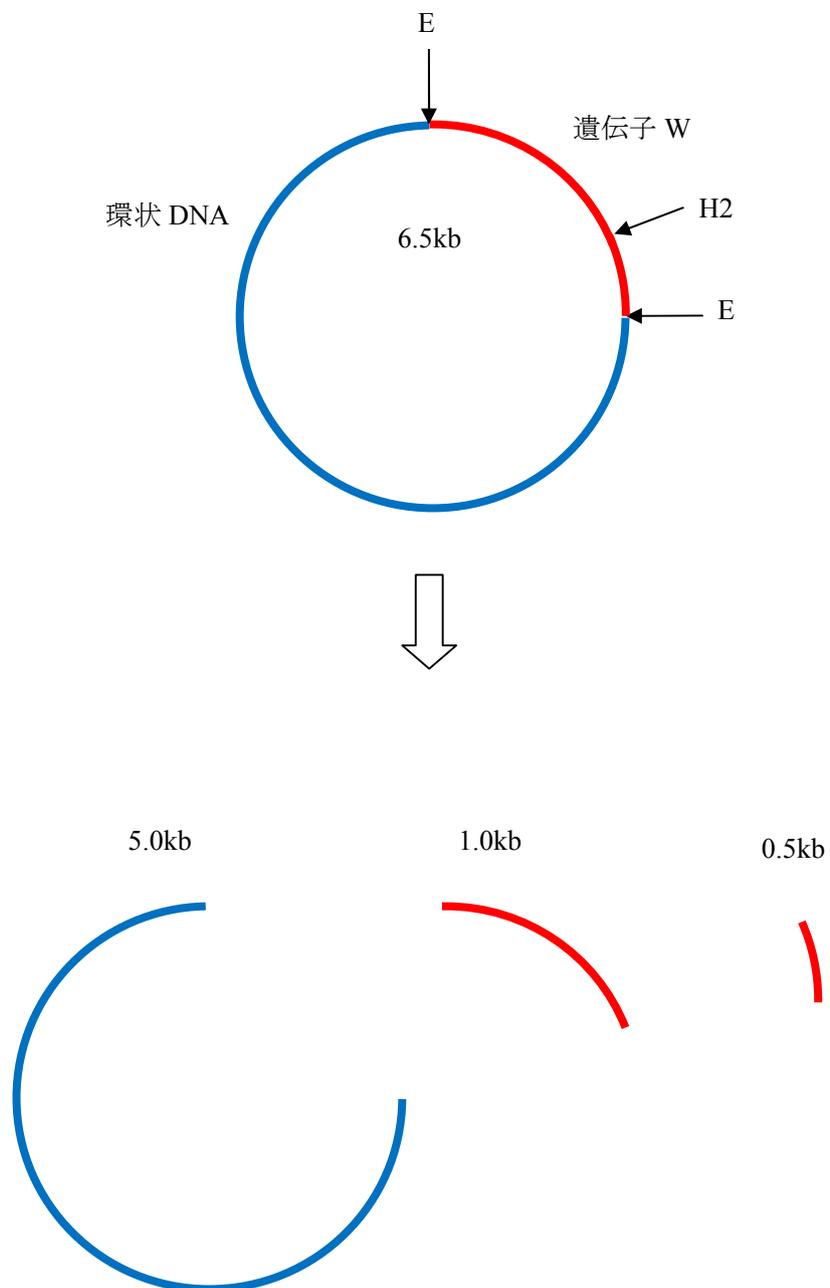
実験 3

E と H で切断後の電気泳動により 5.0kb, 1.0kb, 0.5kb の DNA 断片が分離される。
E による切断で環状 DNA (5.0kb) の断片が生成するが、
それを H がさらに切断するとしたら、5.0kb の DNA 断片が生じないはずである。
よって、H が切断したのは遺伝子 W (1.5kb) であり、
切断部位については、次の 2 つの場合が考えられ、それぞれの部位を H1, H2 とする。

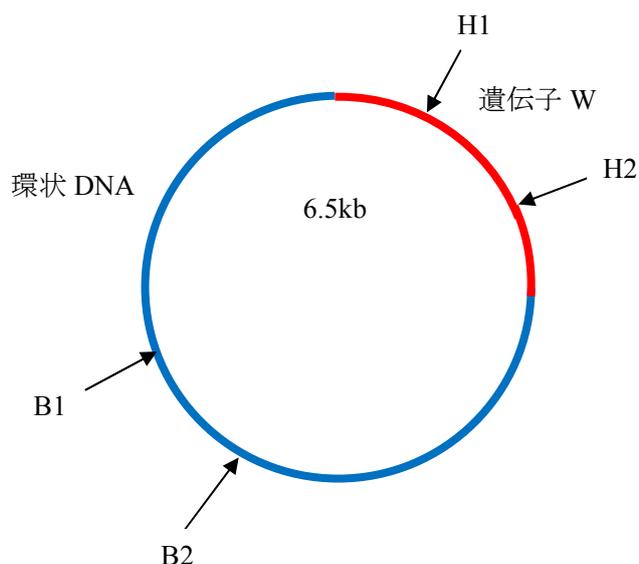
場合 1



場合 2



よって、E と H で切断したとき、
切断部位が H1 と B1 あるいは H2 と B2 であるとする、
 $0.5 + 2.0 = 2.5 \text{ kb}$ と $1.0 + 3.0 = 4.0 \text{ kb}$ の DNA 断片が得られる。
切断部位が H1 と B2 あるいは H2 と B1 であるとする、
 $0.5 + 3.0 = 3.5 \text{ kb}$ と $1.0 + 2.0 = 3.0 \text{ kb}$ の DNA 断片が得られる。



問 2

問題文がわかりにくい。

「制限酵素 E で切断されるために理論上必要な DNA 断片の塩基対数を求めよ。」
とすべきである。

6 塩基対の配列の場合の数は $4^6 = 4096$ 通りある。

これらの配列の中に制限酵素 E で認識される配列が 1 つ含まれるから、

DNA の塩基対数が 4096 あれば、理論上、制限酵素 E で認識される配列が 1 つ存在する。

79.クローン羊

クローンとは

語源はギリシア語で、植物の小枝の集まりを意味する。

本来の意味は挿し木。

1903 年ウェッバーが栄養生殖によって増殖した個体集団を指す生物学用語として定義した。

現在では、同一の起源を持ち且つ均一な遺伝情報をもつ集団を指す。

また、クローンは、核酸 (DNA・RNA) レベル、細胞レベル、個体レベルに分類される。

DNA の複製、細胞分裂、無性生殖などによってできた集団はクローンである。

分化した体細胞からクローンを作製する方法

分化した体細胞を低血清培地に置き、飢餓状態にすることにより細胞周期を停止させ、細胞を G₀ 期にもっていく。

↓

体細胞から核を取り出し、核を除去した未受精卵に移植した後、電気ショックを与えることで卵の細胞膜と融合させる。

↓

次の処理を行ない、卵割を開始させる。

分化した体細胞由来の核では特定の遺伝子の発現をタンパク質合成阻害剤で阻害する。

細胞へのカルシウムイオンの取り込みを促進する。

高 CO₂ 濃度下で培養する。

補足

現在では、核を除去した未受精卵に体細胞を直接注入する方法がクローン作製法のスタンダードとなっており、この方法を用いてヒツジ、ウマ、ヤギ、ウサギ、ブタ、ネコ、ラット、イヌなど多くのほ乳動物で体細胞由来のクローン作製が成功している。

なお、クローン体の細胞は、細胞分裂に必要なテロメアの長さが短いことがわかっている。

そのため、クローン体は通常より寿命が短い可能性が否定できない。

80. ノックアウトマウスの作製

薬剤でスクリーニング後の黒色のマウスの ES 細胞の A 遺伝子についての遺伝子型は、AA または AA* である。

↓

これらの ES 細胞をそれぞれ培養し、A 遺伝子産物の産生量を測定すると、遺伝子型 AA* の細胞は遺伝子型 AA の半分であることから、遺伝子型 AA* の ES 細胞を選別できる。

↓

こうして選別した遺伝子型 AA* の黒色マウス ES 細胞を白色マウスの胚盤胞に注入すると、黒色マウス ES 細胞と白色マウス胚の細胞は互いに独立に、協調し合いながら発生する。その結果、各組織では、黒色マウスからの細胞と白色マウスからの細胞が混在しており、体毛は、黒毛と白毛のまだら模様になっている。このマウスをキメラマウスという。よって、生殖細胞も黒色マウス由来のものと白色マウス由来のものが混在している。

↓

体色に関して黒色マウスは白色マウスに対して優性である。したがって、キメラマウスの雌と白色マウスの雄を交配すると、黒色マウス由来の卵が受精すると黒色マウスが生まれる。

↓

A 遺伝子は黒色細胞由来の卵は A または A*、白色マウスの精子は A だから、生まれた黒色マウスの遺伝子型は AA* または AA である。

↓

ここで、A 遺伝子産物の産生量を測定し、遺伝子型 AA* の黒色マウスを選別する。

↓

遺伝子型 AA* の黒色マウスどうしを交配すると、25% の確率で A 遺伝子を欠損した遺伝子型 A* A* のノックアウトマウスが生まれる。

82. Ti プラスミド**細菌 A とタバコ被感染細胞の腫瘍化**

土壌細菌 A がタバコに感染

↓

細菌 A の Ti プラスミド上にある遺伝子 *tms*, *tmr*, *nos* がタバコ細胞に移行し、タバコの染色体 DNA に組み込まれる。

↓

遺伝子を組み込まれた細胞では無秩序な細胞分裂が起こり腫瘍を形成すると同時に、正常細胞には見られないオピンと呼ばれる有機窒素化合物を合成・蓄積する。

↓

細菌 A はオピンを炭素源および窒素源として利用する。

遺伝子 *tms*, *tmr*, *nos* とタバコ被感染細胞の変化

ケース	<i>tms</i> 植物ホルモン 合成酵素遺伝子	<i>tmr</i> 植物ホルモン 合成酵素遺伝子	<i>nos</i> オピン 合成酵素遺伝子	被感染細胞の変化
1	+	+	+	腫瘍形成・オピン合成
2	-	+	+	茎葉に分化・オピン合成
3	+	-	+	根に分化・オピン合成
4	+	+	-	腫瘍形成

問 1

①

染色体に *tms*, *tmr*, *nos* が組み込まれている限り正常化しない。

また、健全な植物に移植しても増殖するとある。

よって、誤

②

ケース 4 より腫瘍化には *nos* を必要としない。

よって、誤

③

染色体に *tms*, *tmr* が組み込まれている限り腫瘍が増殖維持される。

また、細菌を除去し、健全な植物に移植しても増殖するとある。

よって、誤

④

野生型の細菌 A に感染された細胞の染色体には *nos* も組み込まれている。

よって、正

⑤

腫瘍形成には、染色体に *tms*, *tmr* が組み込まれなければならないから、細菌 A が必要だが、腫瘍が形成されてしまうと、組み込まれた遺伝子 *tms*, *tmr* の作用で腫瘍が増殖維持されるので細菌 A を必要としない。

よって、正

⑥

腫瘍細胞の染色体には細菌 A の遺伝子 *tms*, *tmr*, *nos* が組み込まれているので、正常細胞の染色体 DNA とは異なる。

よって、誤

問 2

(1)

組織培養の実験で、

オーキシン濃度 > サイトカイニン濃度のとき、カルスは根へ分化する。

オーキシン濃度 < サイトカイニン濃度のとき、カルスは茎葉へ分化する。

このこととケース 3 から、

tms はオーキシン合成酵素遺伝子であると考えられる。

よって、

オーキシン

また、ケース 2 から、

tmr はサイトカイニン合成酵素遺伝子であると考えられる。

(2)

ケース 2 とケース 3 から、腫瘍形成には、*tmr* と *tms* の両方が機能することが必要である。

よって、②

83. マンモス復活計画

問 2

「雑種象 DNA のうちマンモス由来の DNA が初めて 99%以上となるのは第何世代か」という問題である。

n 世代目の象の DNA の x_n %がマンモス由来の DNA であるとする、

その卵の DNA も x_n %がマンモス由来の DNA である。

これにマンモスの精子を受精させると、

マンモスの精子の DNA は 100%がマンモス DNA だから、

受精卵の DNA の $\frac{x_n + 100}{2}$ %がマンモス由来の DNA となる。

つまり、

$$x_{n+1} = \frac{x_n + 100}{2}, \quad x_1 = 50$$

$$x_{n+1} - 100 = \frac{1}{2}(x_n - 100)$$

$$x_n - 100 = \left(\frac{1}{2}\right)^{n-1} (x_1 - 100)$$

$$x_n = \left(\frac{1}{2}\right)^{n-1} (50 - 100) + 100$$

$$x_n = 100 - \frac{50}{2^{n-1}}$$

$$100 - \frac{50}{2^{n-1}} \geq 99 \text{ より,}$$

$$\frac{50}{2^{n-1}} \leq 1$$

$$\frac{2^{n-1}}{50} \geq 1$$

$$2^{n-1} \geq 50$$

$$2^5 < 50 < 2^6 \text{ より,}$$

$$n - 1 = 6$$

よって、

$$n = 7$$