

## 【 1 】 解答例

- (ア) グリシン (または G、Gly)、(イ) トリプトファン (または W、Trp)
- (ウ) (DNA)プライマーゼ、(エ) 3'、(オ) (デオキシリボ)ヌクレオチド
- (カ) 複製起点、(キ) テロメア、(ク) セントロメア
- (ケ) 3、(コ) 開始コドン、(サ) メチオニン、(シ) 3、(ス) 終止コドン
- (セ) プロモーター、(ソ) エンハンサー
- (タ) 8、(チ) 2 (または 1.67, 1.7)、(ツ) ヌクレオソーム
- (テ) トランスクリプトーム、(ト) 逆転写酵素、(ナ) RNA-seq
- (ニ) 生殖、(ヌ) 体
- (ネ) 中間径フィラメント、(ノ) 核膜、(ハ) 微小管、(ヒ) チューブリン
- (フ) GTP、(ヘ) 動的不安定、(ホ) 収縮環
- (マ) ATP、(ミ) アセチル CoA、(ム) S-アデノシルメチオニン
- (メ) DNA、(モ) ミトコンドリア、(ヤ) シアノバクテリア

## 【2】 解答例

### 問1

ヒトの DNA 塩基数は約 30 億塩基対（1 倍体あたり）で、タンパク質は約 20,000 種類（-30,000 種類まで答えを許容する）。

### 問2

ヒトゲノムの中で、タンパク質の読み取り枠以外の非コード領域には（不活化した）トランスポゾンや Alu 配列に代表されるような繰り返し配列が数多く存在する。その非コード領域の多くが RNA に転写されることが知られている。

### 問3

特定の遺伝子を破壊するために、その遺伝子の DNA 領域をクローニングし、薬剤耐性などの選択遺伝子（それにより遺伝子が破壊される）を挿入した DNA 断片を準備し、細胞（ES 細胞や受精卵）などに導入して、DNA 間の配列の相同性を利用した相同組換えの働きを介して、細胞のゲノム上の配列を置き換える方法

### 問4

目的遺伝子と同じ配列を持つ 2 本鎖 RNA を導入することで、細胞内の RNAi に関わるタンパク質複合体（Ago ファミリー）に、2 本鎖 RNA 由来の短い 1 本鎖 RNA が取り込まれ、その RNA と相補的配列を持つ mRNA などが分解（翻訳阻害）されることで、タンパク質量を減少した細胞の性質を解析することで、遺伝子の機能を知る方法。

### 問5

Cas9 と呼ばれるタンパク質と 20 ヌクレオチドの長さのガイド RNA からなるリボヌクレオチドタンパク質複合体、部位特異的 DNA 切断酵素。

### 問6

CRISPR/Cas9 複合体で導入された DNA の 2 本鎖切断は通常、相同組換えと非相同末端結合により修復される。相同組換えは正確な DNA 修復だが、DNA の末端を単純に結合させる非相同末端結合はいい加減な修復反応で、修復の際、末端の削り込みを伴う場合が多い。つまり、非相同末端結合に修復されると、DNA 配列の欠失（変異）が入り、特定の遺伝子の読み取り枠などに DNA の 2 本鎖切断を導入して、特定の遺伝子を破壊することができる。

### 問7

可能性 1 遺伝子 A が形の形成のみに関わる遺伝子（細胞分裂には関わらない）。細胞分裂の欠損はオフターゲット効果

可能性 2 遺伝子 A が形の形成と細胞分裂に関わる場合

実験 遺伝子 A を細胞に戻して、表現型を解析する

2つの細胞で見つかった共通の表現型である、形の変化が遺伝子 A を破壊した結果である可能性が高い。つまり、遺伝子 A は細胞の形の維持に関わる遺伝子である可能性がある。それを確認するため、遺伝子 A をそれぞれの細胞に戻し（発現させる）、その戻した細胞の形の変化を確認する。もう1つの欠損が遺伝子 A によるかも同じ実験で検証できる。細胞分裂の異常が戻らなかった場合は、その欠損はオフターゲット効果による可能性が高い。もし戻った場合は遺伝子 A が細胞の形のみならず、細胞分裂に関わる遺伝子、つまり2つの機能を有すると言える。表現型に違いが出たのはゲノム編集の際の読み取り枠の繋がり方により、両方の欠損が出る（タンパク質ができない）場合、1つの欠損しか出ない（複数のドメインのタンパク質の1部のみが欠損）場合と考えられる。

それ以外の実験

—全 DNA 配列を決定する、同じ実験を繰り返すなど。

## 【3】 解答例

問1

- (ア) ミオシン
- (イ) アクチン
- (ウ) トロポミオシン
- (エ) カルシウム
- (オ) アセチルコリン
- (カ) 筋小胞体
- (キ) カルシウム
- (ク) トロポニン

問2

(d)

問3

静止膜電位の状態ではチャネルは閉じている。刺激を受けて脱分極が大きくなるとチャネルが開き、ナトリウムイオンが流入して、さらに膜電位は上昇する。しばらくするとチャネルは不活性状態になってナトリウムイオンの流入は止まる。ここから膜電位は下がり始めて元の静止膜電位に戻ってゆくので、山型のピークを持った膜電位変化（活動電位）が生じる。

問4

エキソサイトーシス（開口分泌、開口放出）

問5

(g)

問6

ミオシン

問7

カルシウム（キ）イオンの増加に応じて、ミオシン（ア）がリン酸化されて構造変化することにより、ミオシン（ア）とアクチン（イ）が相互作用できるようになる。

【4】 解答例

問1

母親のゲノムから転写された mRNA が未受精卵に蓄えられたもの。

問2

縞2調節領域にプロモーターと GFP などのレポーター遺伝子をつなげた DNA を胚に導入し、縞2の領域で GFP が発現するか調べる。

または

ゲノム上の縞2の調節領域に変異や欠損を導入して *eve* の発現が減少するか調べる。

問3

Giant, Krüppel が転写抑制因子である。

問4

Krüppel タンパク質が欠乏した胚では *eve* の発現は後方に広がる。理由は Krüppel は縞2の後方で *eve* の縞2での発現を抑制しているから。

問5

それぞれ縞によって存在する転写調節因子の濃度や組み合わせが異なっており、特定の縞の調節領域はその縞固有の転写調節因子の濃度や組み合わせでのみ転写が活性化する仕組みになっているため。

問6

Nanos タンパク質が Hunchback mRNA の翻訳を抑制する可能性。

## 【5】 解答例

### 問1

- (ア) 共鳴
- (イ) 二重
- (ウ) 水素
- (エ) 二次
- (オ) ラマチャンドラランプロットまたはラマチャンドラランダダイアグラム
- (カ) 位相
- (キ) 電子密度
- (ク) フーリエ逆または逆フーリエ

### 問2

#### イオン結合

多くのタンパク質は生体中で中性の水溶液中に溶解しており、このような環境下ではアスパラギン酸やグルタミン酸の側鎖のカルボキシ基は解離し、負に荷電している。一方、リジンやアルギニンは水素イオンを結合して正に荷電している。これら正と負の電荷が引き合うことによって形成されるのがイオン結合である。

#### 疎水性相互作用

水分子と水素結合をすることができない非極性の疎水性のアミノ酸残基は水溶液中では水との接触面をできるだけ小さくするように集合する。水溶性の球状タンパク質では、疎水性のアミノ酸残基は内部に集合し、タンパク質の芯を形成し、タンパク質全体の構造を支える役割を担っている。

#### ジスルフィド結合

タンパク質中の2組のシステインのチオール基が酸化されてできる共有結合でS-S結合ともいう。水素結合やイオン結合に比べて強固なため、タンパク質の立体構造の安定化に大きな役割を果たす。

### 問3

#### ・pH

pHが変化するとアミノ酸側鎖のイオン状態が変わりタンパク質の電荷分布や水素結合性が変わるため。

#### ・界面活性剤

非極性残基に疎水的に結びつきネイティブコンフォメーション形成の大きな力である疎水性相互作用を変えるため。

#### ・高濃度の水溶性有機溶媒

脂肪族アルコールなどは水との相互作用で溶媒の疎水性を変えることによりタンパク質の安定化に働く疎水性相互作用に影響する。

#### ・カオトロピック試薬

ホフマイスター系列でタンパク質を変性させる性質の強いもの (I、ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>、

SCN<sup>-</sup>、Li<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Ba<sup>2+</sup>など) をカオトロピック (水分子のかご構造を壊す) 試薬という。カオトロピック試薬は非極性物質の水への溶解度を増すため、変性剤としての性質も疎水性相互作用を妨げることによると思われるがその機構は明らかではない。グアニジウムイオン (Gu<sup>+</sup>) や尿素もカオトロピック試薬の1つとして知られ、5-10M の濃度で用いられる。

問 4

(b)

理由

タンパク質中の二次構造の取る理想的な  $\phi$  と  $\psi$  の角度は以下の様になり、 $\alpha$ -helix と  $\beta$ -シートでは  $\phi$ 、 $\psi$  の領域が異なる。

$\alpha$ -ヘリックス  $\phi$   $-57^\circ$   $\psi$   $-47^\circ$

$\beta$ -シート (逆平行)  $\phi$   $-139^\circ$   $\psi$   $+135^\circ$

$\beta$ -シート (逆平行)  $\phi$   $-119^\circ$   $\psi$   $+113^\circ$

ラマチャンドラプロットから 2 種類の 2 次構造が含まれていることが分かる。

(c) は  $\alpha$ -ヘリックスのみで構成されるため該当しない。よって、このラマチャンドラプロットは (b) のタンパク質を表す。

問 5

配列 2

理由

配列 1 には  $\alpha$ -ヘリックスを壊す Pro が 3 残基、Gly が 2 残基含まれる。一方、配列 2 には  $\alpha$ -ヘリックスの形成を促進する Ala、Arg、Lys、Leuなどを多く含み、Pro や Gly は 1 残基も含まない。よって、配列 2 の方が  $\alpha$ -ヘリックスを形成しやすいと考えられる。

問 6

中性子を物質に照射すると原子核と相互作用して散乱されるため、散乱振幅は原子核構造に依存し、原子番号とは比例しない。また、中性子による重水素の散乱振幅は炭素や酸素と大差がないため容易に観測することができる。したがって、タンパク質結晶を重水置換することで水素原子の観測がさらに容易になる。しかし、X線は原子核の周囲にある電子と相互作用することによって散乱されるので散乱振幅は原子番号に比例して変化するため水素原子の観測は難しい。

問 7

目的の生体試料を急速凍結して薄い非晶質の氷の膜中に閉じ込め(氷包埋法)、液体窒素温度下で透過型電子顕微鏡を用いて分子を直接観察する方法をクライオ電子顕微鏡法といい、これを用いた構造解析手法の1つが単粒子解析法である。単粒子解析法では、目的分子が様々な方向で氷中に包埋されていることを利用し、電子顕微鏡を用いて様々な向きの分子像を大量に取得した後、画像処理によって分子の三次元構造を再構成する。

## 【6】 解答例

問 1

DDBJ, Ensembl, GenBank, RefSeq がゲノム配列を収集したデータベースである。

問 2

(1) FASTA フォーマット

(2) 配列アライメントの解析によく用いられる。配列の類似性を調べる時に用いられる。

問 3

塩基性アミノ酸がある一定間隔で配置されているので、酸性の性質を持つ分子と結合すると予測される。例えば、相互作用相手は、DNA や RNA などの核酸分子である可能性が高い。

問 4

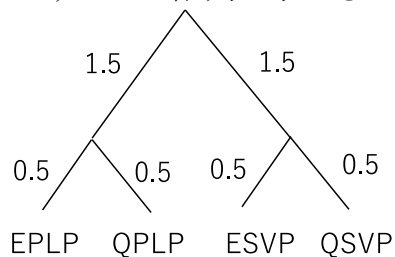
距離行列は以下のように示される。

	(EPLP, QPLP)	ESVP	QSVP
(EPLP, QPLP)	0	$\frac{1}{2}(2+3)=2.5$	$\frac{1}{2}(3+2)=2.5$
ESVP		0	1
QSVP			0

配列 (EPLP, QPLP) を還元すると以下のようなになる。

	EPLP	QPLP	ESVP	QSVP
EPLP	0	1	2	3
QPLP		0	3	2
ESVP			0	1
QSVP				0

これを 4 つすべての配列で求めると以下のような系統樹が完成する。



問 5

定常状態は以下の式で与えられる。

$$\frac{d[\text{EnzA mRNA}]}{dt} = v_1 - v_2 = k_1[\text{TF}^*] - k_2[\text{EnzA mRNA}] = 0$$



$$\frac{d[\text{EnzA protein}]}{dt} = v_3 - v_4 = k_3[\text{EnzA mRNA}] - k_4[\text{EnzA protein}] = 0$$

よって、定常状態 SS における EnzA の mRNA およびタンパク質の濃度は以下の式で求めることができる。

$$[\text{EnzA mRNA}]_{ss} = \frac{k_1}{k_2} [TF^*]$$

$$[\text{EnzA protein}]_{ss} = \frac{k_1 k_3}{k_2 k_4} [TF^*]$$

問 6

EnzA タンパク質濃度の定常状態は、以下の式で示される。

$$[\text{EnzA protein}]_{ss} = \frac{k_1 k_3}{k_2 k_4} [TF^*]$$

よって、 $k_1, k_3$  を高くする、あるいは  $k_2, k_4$  を低くすることで、EnzA タンパク質の濃度を増やすことができる。また、TF 濃度を過剰発現により高くすることも可能である。

問 7

RNA 干渉実験により、TF 濃度は変化せず、EnzA mRNA, EnzA タンパク質の濃度は下がると考えられる。

問 8

(1) 競合阻害

(2) 競合阻害の場合、 $v, K_i$  は以下の式で求めることができる。

$$v = \frac{V_{max} [S]}{a K_m + [S]}, \quad K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

よって、

$$a = \frac{K_m^{app}}{K_m} = \frac{15}{10} = 1.5$$

$$a = 1 + \frac{[I]}{K_i}, \quad 1.5 = 1 + \frac{5}{K_i}, \quad 0.5 = \frac{5}{K_i} \quad \text{よって、} K_i = 10mM$$