

## 「遺伝学」練習問題解答 11章

- 1 制限と修飾は細菌とファージの間に観察される現象で、たとえばあるファージ株の増殖が特定の宿主で抑えられたとき、これをファージの増殖が制限されたという。一方、このファージがこの宿主で増殖できるように変化した場合には、ファージが修飾を受けたといわれる。
- 2 遺伝子のクローニングに不可欠な、制限酵素の発見をもたらした。
- 3 制限酵素地図とは、線状もしくは環状 RNA 上に、さまざまな制限酵素の認識サイト（制限酵素の切断箇所）を示したものである。制限酵素地図は、2種類の制限酵素のそれぞれで DNA を消化したときに生じる断片の大きさと、これら酵素の二重消化で生じる制限断片の大きさを勘案し、各制限酵素の認識サイトの DNA 上における相対的な位置関係を求めることで作成される。
- 4 制限酵素消化で生じた DNA 断片を、アガロースゲル電気泳動により分離する。次に、ゲル中の DNA をアルカリ処理で一本鎖へ変性した後、塩溶液を用いてナイロン膜へ転移させる。一本鎖 DNA を紫外線照射などによりナイロン膜に固定した後、RI、ビオチン、Dig などにより標識したプローブ DNA をハイブリダイズさせる。オートラジオグラフィや免疫染色により、プローブ DNA が結合したナイロン膜上の特定断片を検出する。この一連の操作をサザンハイブリダイゼーションと呼ぶ。
- 5 比較したい DNA を制限酵素で消化して、アガロースゲル電気泳動、サザンハイブリダイゼーションなどにより、制限酵素の認識サイトの有無に違いがないか調べることを RFLP 分析と呼ぶ。
- 6 相同染色体上の RFLP は、通常の遺伝形質と同じようにメンデル遺伝をする。F<sub>2</sub>集団やバッククロスで育成した BF<sub>1</sub>集団の各個体における RFLP の分離を多数の個体について観察し、それらの連鎖地図を作成する。
- 7 これらのベクターをもつ大腸菌はβ-ガラクトシダーゼのα相補性により、X-gal を含む培地上で青いコロニー（pUC系ベクター）もしくは青いプラーク（gt10）を形成する。組換え体はベクターへのインサートの挿入によりβ-ガラクトシダーゼの機能を失うので、白コロニーあるいは透明プラークを選抜することで、組換え体が得られる。
- 8 一本鎖 DNA を鋳型に、プライマーから相補鎖 DNA を合成する。このとき、反応系に ddNTP の1種類を加え、特定の塩基で伸長が停止した4種類の一本鎖 DNA 集団を調製する（蛍光標識などにより4種類が区別できるようにする）。ポリアクリルアミドゲル電気泳動により、一本鎖 DNA を1塩基の長さの違いで分離し、どの塩基で伸長が停止したかを短いものから順に明らかにする

ことで、その DNA の塩基配列を決定する。

- 9 DNA を熱変性した後、増幅させたい領域の末端に位置する 2 種類のプライマーをそれぞれの相補鎖にアニールさせ、耐熱性の DNA ポリメラーゼによりプライマーから DNA 鎖を合成する（伸長反応）。この変性、アニール、伸長の一連の過程を数十回繰り返すことにより、プライマーにはさまれた領域を試験管内で増幅させる。
- 10 PCR の伸長反応において、プライマーからの DNA 鎖の合成を担う。
- 11 長い DNA をランダムに切断して得た短い DNA 断片の塩基配列を片っ端から決定した後、これらをコンピュータでつなぎ合わせ、元の DNA の塩基配列を構築するショットガン法と、すでに決定した塩基配列に基づき新たなプライマーを設計し、そのプライマーから塩基配列を新たに決定することを繰り返すプライマーウォーキング法などによる。
- 12 戻し交配世代と同等の情報を得ることができる。
- 13 全 RNA、あるいはそれから精製したポリ (A) RNA を鋳型に、逆転写酵素、RNアーゼ H などの各種酵素を用いて二本鎖 cDNA の集団を調製する。これをファージもしくはプラスミドベクターへクローニングして、cDNA ライブラリーを得る。
- 14 目的遺伝子を発現している組織あるいは細胞などから cDNA ライブラリーを調整し、そこから得た大腸菌クローンのレプリカプレートを作成し、発現産物を含むプローブと発現産物を含まないプローブの両方でスクリーニングして、前者のみがハイブリダイズするクローンを選抜する。
- 15 たとえば gt11 などの発現ベクターを用いてライブラリーを作製し、プラークに溶出してくるタンパク質をナイロン膜に転移させる。ナイロン膜に抗体を反応させて、検出されたシグナルに対応するクローンを選抜する。
- 16 コドン表を考慮して、アミノ酸配列から混成オリゴヌクレオチドを設計する。このオリゴヌクレオチドを標識してプローブに用い、ハイブリダイズするクローンを選抜する。
- 17 gt10 などのファージベクターを用いて作製した cDNA ライブラリーから、プラークのレプリカをつくり、14 と同様の方法でスクリーニングして、対応するファージクローンを選ぶ。