

「遺伝子工学」練習問題解答 6 章

- 1 クローニングベクターは、コピー数の多いほうが同じ量の菌体からプラスミド DNA をたくさん回収できて便利である。これに対し発現ベクターは、コピー数が多いと非誘導時の発現の「もれ」によって毒性が高くなって菌が死んでしまうため、むしろ少ないコピー数のものが好まれる。
- 2 厳密な比較は難しいが、より簡便で実用的な比較法から順に述べる。
- ・ゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィーなどの分離パターンを天然タンパク質のそれと比較する。複数の方法による比較で一致していれば、それらの高次構造が同じである確率が高い。
 - ・タンパク質の生理活性、すなわち酵素であれば触媒活性、(抗体などの) 結合タンパク質であれば結合活性を測定し、それらを天然タンパク質の値と比較する。
 - ・円二色性分散計を用いて遠紫外域での円二色性を測定し、天然タンパク質とその二次構造含量を比較する。
 - ・X線結晶回折あるいはNMRによる立体構造決定を行い、両者を比較する。
- 3 酵母は細胞壁をもつことから、抗生物質がこれを通過しにくく、選抜に使える抗生物質が限られるため。
- 4 発現量あたりのコストでは、原核細胞、酵母、昆虫細胞の順で優れている反面、原核細胞では活性のある形で発現できないタンパク質も多い。一方、発現されるタンパク質の翻訳後修飾など品質の面では動物細胞が最も優れており、昆虫細胞、酵母がこれに続く。無細胞系はこれらの面では今一步だが、多品種同時発現などほかにはない長所をもつ。
- 5 調節 DNA1 は、組織 D での標的タンパク質遺伝子の発現を抑制する。調節 DNA2 は、組織 D, E, F での標的タンパク質遺伝子の発現を活性化する。調節 DNA3 は、組織 B での標的タンパク質遺伝子の発現を活性化する。
- 6 外膜の外側に露出しているタンパク質のループ部分に標的ペプチドを挿入して提示する。このループ部分に分子サイズの大きいタンパク質を挿入すると、LamB の構造が大きく変化し、融合タンパク質の立体構造形成や細胞外膜への提示ができなくなる可能性が高い。