

問題 1. 次の設問に答えよ。

- (1) 実験室において、DNA 複製を模倣したポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 反応は、一般的に 3 段階に温度を変化させて行う (例: 95°C 、 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 、 72°C)。それぞれの温度制御の目的を答えよ。
- (2) DNA 複製に関与する酵素のうち、①DNA 鎖を伸長する酵素、および②DNA 二本鎖の両鎖を切断し、ねじれをとる働きをする酵素を答えよ。
- (3) DNA 複製に関与する酵素のうち、DNA ヘリカーゼの働きを答えよ。
- (4) ラギング鎖 (遅延鎖) における DNA 複製では、断片的に DNA 鎖が伸長され、最終的にはそれぞれの断片が結びつくことで、複製が完了する。①ラギング鎖の複製で見られる DNA 断片のことを何というか、また②DNA 断片同士の連結反応を担う酵素を何というか答えよ。
- (5) DNA の塩基組成 (各塩基の百分率) を $[A]$ 、 $[G]$ 、 $[C]$ 、 $[T]$ で表す。二重らせん構造の DNA で成り立つ関係式を①～⑥の中から全て選び、番号で答えよ。ただし、この DNA では、 $[A]$ と $[G]$ は等しくないこと、また 4 種類の塩基が全て含まれることを前提とする。

$$\begin{array}{lll} \textcircled{1} \frac{[G]}{[A]} = \frac{[T]}{[C]} & \textcircled{2} [A] + [T] = [C] + [G] & \textcircled{3} [A] \times [G] = \frac{[C]}{[T]} \\ \textcircled{4} \frac{[C] + [G]}{[A] + [T]} = \frac{[C]}{[T]} & \textcircled{5} \frac{[C] + [T]}{[A] + [G]} = \frac{[G]}{[A]} & \textcircled{6} \frac{[T]}{[A]} = \frac{[G]}{[C]} \end{array}$$

問題 2. 次の設問に答えよ。

K 君は、核酸の構造を学んでいるとき、DNA が直鎖状、またはプラスミドのような環状の状態で存在していることを知った。そこで、①と②の DNA を用いて、電気泳動に関する〔調査 I〕～〔調査 III〕の自主研究を行なった。

- ① 直鎖状の λ フェージ (細菌に感染するウイルスの 1 種) DNA
- ② 10 kbp のサイズの環状のプラスミド DNA

〔調査 I〕①の DNA (全長 48.5 kbp) を制限酵素 A により完全に切断した。電気泳動と染色後に、その断片化した DNA 全てを調べたところ、そのうち 6 個の DNA 断片のサイズと泳動距離の関係が表 1 のようになった。

表 1 電気泳動による DNA 断片のサイズと泳動距離の関係

	断片 1	断片 2	断片 3	断片 4	断片 5	断片 6
DNA サイズ (kbp)	7.7	4.3	2.7	1.5	0.9	0.4
泳動距離 (cm)	2.1	2.8	3.6	4.6	5.4	6.4

- (1) [調査 I] から、DNA が電気泳動によって移動する原理について、先生は K 君に、以下のように説明した。 a ～ f に適切な語句を記載せよ。

DNA 分子は、塩基、 a と呼ばれる糖、 b から構成されるヌクレオチド分子同士が重合した高分子化合物であり、分子内に b が存在しているため、水溶液中では c に帯電している。そのため、電圧をかけると、DNA 分子は寒天の繊維の網目の中を d から e の方向に移動する。その際、DNA 分子のサイズが f ほど、泳動距離が長い。

- (2) 制限酵素 A は、特定の 6 塩基を認識して、特異的に切断する酵素である。[調査 I] で用いた DNA 上の 4 種の塩基は均等な割合で存在し、ランダムにならんでいると仮定した場合、①の DNA は何か所で切断される確率をもっとも高いか、求めよ。また計算式も記せ。

[調査 II] 表 1 の結果に基づき、DNA 断片のサイズと泳動距離について、図 1 に示したグラフ上に、通常のスケールでプロット (左) と片対数スケールでプロット (右) して、それぞれの関係性を調べた。

- (3) 図 1 を用いて、[調査 II] を行なってみてわかることを簡潔に答えよ。

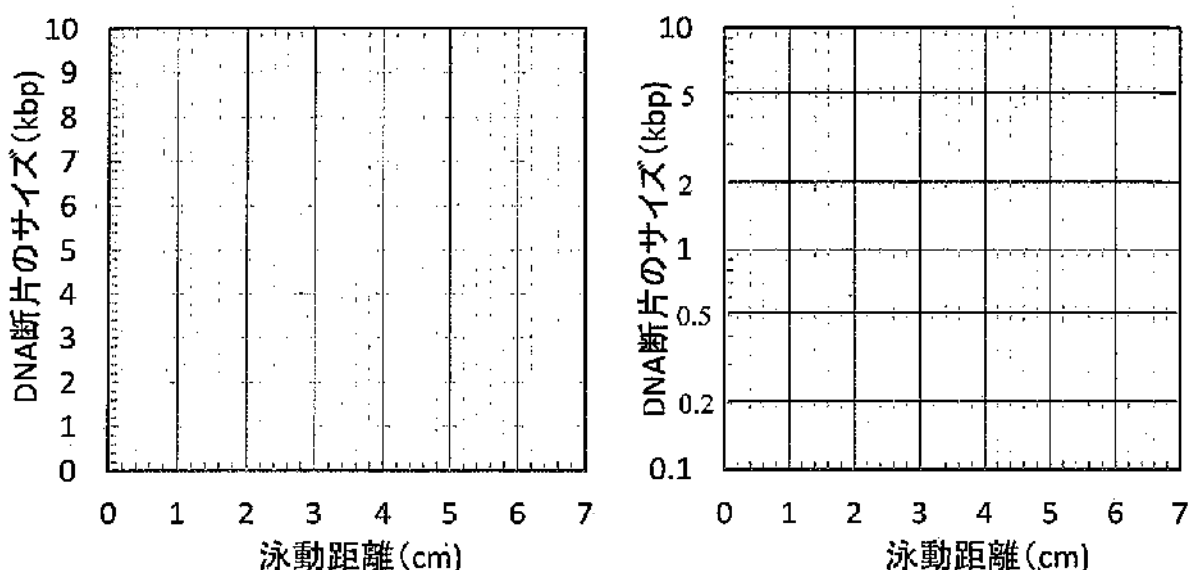


図 1 DNA 断片のサイズと泳動距離の関係性

(左：通常のスケール，右：片対数スケール)

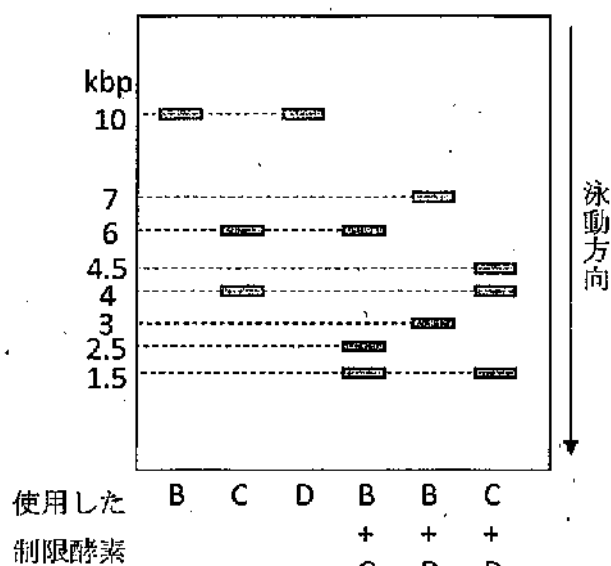


図2 泳動パターン

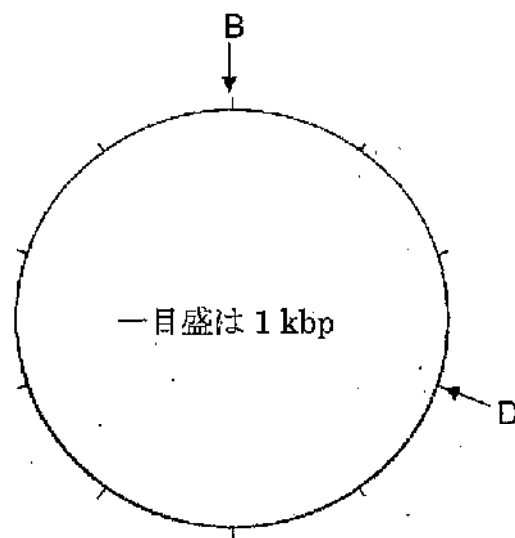


図3 未完成な制限酵素地図

〔調査 III〕 ②のプラスミド DNA を 3 種類の制限酵素 B、C、D を用いて単独、または 2 種の制限酵素で同時に処理した。生じた DNA 断片を電気泳動で調べると、図 2 のような泳動パターンが得られた。これらの結果をもとに、制限酵素地図の作成を行なった。

- (4) 〔調査 III〕の結果から、K 君は図 3 のように制限酵素地図を作成したが、未完成である。図 3 に描かれた以外の切断部位を加え、制限酵素地図を完成させよ。
- (5) 〔調査 III〕において、あらかじめ制限酵素 B で切断処理をした直鎖状 DNA に対して、さらに制限酵素 B、C、D を用いて単独、または 2 種の制限酵素で同時に処理した時、電気泳動の泳動パターンはどのようなになるか、図示せよ。