練習問題

用語

問1

次のa～hの用語に最もよく合致するものを，下の1～8から選びなさい。

a　塩基配列タグ部位（STS）
b　全ゲノムショットガン配列解読
c　DNAアレイ
d　選択的RNAスプライシング
e　遺伝子の水平伝達
f　物理地図
g　SNP
h　高密度連鎖地図

1　クローニングした挿入DNAの順を示す地図
2　チップ上のDNAの断片
3　他の生物の遺伝子がある生物の生殖系に存在すること。
4　物理地図づくりを回避するゲノム配列解読法
5　多型の単一塩基部位
6　異なる組合せで遺伝子のエキソンをいっしょに結合すること。
7　1 cM以下しか離れていない遺伝マーカーの地図
8　分子マーカーになる独自のDNA配列

10.1

問2

200 kbの挿入DNAをもつ1万5,000 BACクローンでヒトゲノム（3 Gbと推量される）の完全な物理地図をつくることは可能か？

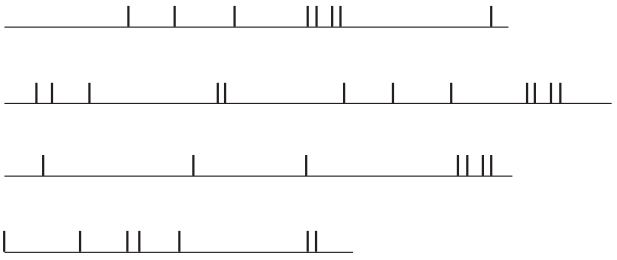
問3

単純反復配列（SSR）DNAプローブを用いて，ライブラリーからいくつかのクローンを分離した。SSRにもとづく塩基配列タグ部位（STS）を樹立するためにゲノム中で見つかる，これらの反復配列DNAの隣りにある独自の配列を同定したい。

a　分離したクローンの中に独自の配列があるかどうかをどのように決定できるか？
b　最も役に立つSTSは，集団中で多型のある（すなわち配列に変異がある）SSRと，関連したSTSである。STSが多型のあるSSRと関連しているかどうかをどのように決定できるか？

問4

DNA配列の解析にさらに適切なクローンのセットをつくるためにBACクローンを消化し，生じた制限酵素断片をサブクローニングすることによって一連のコスミドクローンが作製される。挿入された断片の制限酵素パターンを次に示す。クローンの順序とその間のオーバーラップを示して，これらの4つのコスミドを物理地図上に並べなさい。



問5

問4で述べたもう1つの方法で，コスミドライブラリーをBAC挿入物でプローブして，22個のコスミドが得られた。コスミドのうち，2個以外のすべては重複するグループ（コンティグ）として配置された。この1そろいのコスミドは，BAC挿入物の全体をカバーした。このコンティグに適合しなかった2つのコスミドにどのような解釈を与えることができるか？ なぜ，これらはBACプローブとハイブリッドを形成したのか？

問6

アカゲザル（*Macaca mulatta*）のゲノム計画の進行中に単一のコンティグを形成する5個のBACクローン（A～E）が得られた。BACクローンの2つの末端（すなわちサルのゲノムDNAがBACベクターに結合した部分）の各々からサルのDNAの短い（約500 bp）配列を決定した。DNA試料中に存在すれば，500 bpのサルのDNAを増幅できるPCRプライマーをつくることによって，これらの配列を塩基配列タグ部位（STS）に変換した。下の表は，どのSTSが5個のBACの各々に見つかったかを示している。各々のクローンはもちろん各々の末端に配列を解読したサルのDNAに対応する2つのSTSをもっている。

BACクローン	末端STS	他のSTS
A	1 2	4 5 7 10
B	3 4	2 9
C	5 6	1 8
D	7 8	1 5
E	9 10	2 4

a　なぜBACベクターに結合した位置のサルのDNAの配列を決定することが非常に効率がよいのか？

b　BACクローンの相対的順序と，STSの位置を示すデータと一致するこの領域の物理地図を描きなさい。

c　全コンティグのDNA配列を決めたいなら，BACクローンの最小のタイリングパスを使って進めることが有利であろう。これはなぜか？ 表のデータと一致する最少のタイリングパスを描きなさい。

d　コンティグの長さをkbで見積りなさい。

問7

ゲノムの配列解読中にコンピュータが次の6個のDNA配列をコンティグにまとめようとしている。この1組のDNA配列でいくつのコンティグが表され，各々のコンティグの配列はどれか？

```
5′  CAAATAGCAGCAAATTACAGCAATATGAAG  3′
5′  AAAATGCCCTAAAGGAAATGAGATTTTTAA  3′
5′  TGATCTCTTCATATTGCTGTAATTTGCTGC  3′
5′  GTAGTATCTCCTTTTAAAAATCTCATTTCC  3′
5′  CAATATGAAGAGATCATACAGTCCACTGAA  3′
5′  TCTCATTTCCTTTAGGGCATTTTCAAATTC  3′
```

問8

DNA反復配列はゲノム計画にとって難問となる。なぜそうなのか？ どの種類の反復配列が最も問題か？ 階層的ショットガンと全ゲノムショットガン配列解読法によりどのようにこの問題を処理できたか。

問9

ゲノムのある領域ではゲノム独自のPCRプライマーを見つけることがしばしば難しいことがある。2つの解釈を示しなさい。

問10

全ゲノムショットガン法にある考えられる難しさは何か？ 2つ書きなさい。

問11

特定のプローブに相同なヒトゲノムDNA配列の位置を表す蛍光*in situ*ハイブリッド形成法を，図10.8b（p.318）に示す。

a　1つが赤色でもう1つが緑色の蛍光を発する2つのプローブをつくったと仮定しよう。同じ染色体に沿って，これらの配列の順を正確に決定するために染色体上の対応する配列がどのくらい離れていなければならないか推定しなさい。FISHのシグナルの大きさは，この種の実験で典型的かつ相同な配列をもち，染色体はヒトゲノムでは平均の大きさであると仮定しなさい。

b　ヒトゲノム配列の発表からヒトの遺伝学研究者は，過去に比べてFISHの実験をあまりしなくなった。この理由を説明しなさい。現在，FISHは何の目的で役立っているか？

問12

遺伝子の染色体上の位置を最初に解析する際に，FISHプロトコールが連鎖地図より優れている点は何か？

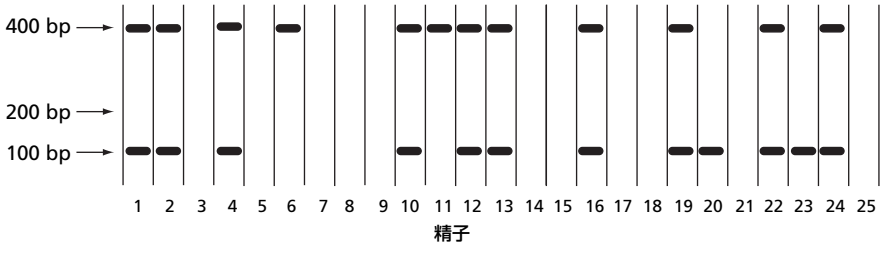
問13

ヒトの遺伝地図作成の限界は，家族の大きさが小さいので正確な組換え頻度を得るには十分なデータを照合することが難しいからである。この問題を回避する技術が単一の精子細胞からDNAを精製することで始まった（組換えは，減数分裂の間に起きることを思いだそう。精子の個体群の解析によって連鎖解析のための大きなデータが得られる）。単一の精子細胞のDNAはポリメラーゼ連鎖反応（PCR）に使用される。PCR反応は解析する鋳型DNAとプライマーの配列の間に1塩基の違いがあるとPCRプライマーがDNAにハイブリッドを形成しないように行うことができる。両方のプライマーが鋳型とハイブリッドを形成するときのみPCR生産物が形成される。

ヒトゲノムクローンのDNA配列にしたがって3対のPCRプライマーを合成した。αプライマーは100 bpの長さの断片を増幅する。βプライマーは200 bpを増幅する。δプライマーは400 bpを増幅する。1人の男性から得た25個の精子が同時に，これらの3対のプライマーとPCR解析にかけられた。下の図を参照し，あとの問いに答えなさい。

a　この方法で検出されるヌクレオチド多型に対して，この男性はホモ接合体か。もしそうならどの多型に対してか？

b　このデータから集められる遺伝地図情報を決定しなさい。



問14

DNA多型の組換え地図をつくるコンピュータの難しさの1例として，多型に富むので男性／女性ペアが各々の遺伝子座に対して，4つの認識可能な対立遺伝子をもつ3つのSSR遺伝子座を考える。

a　3つの遺伝子座が遺伝的にリンクしていないとすると，いくつの異なる種類の子孫がどんな割合で期待されるか？

b　3つの遺伝子座のうち，2つが非常にリンクしているので，それらの間の組換え体を見つけるのが非常に難しいが，3つ目の遺伝子座が他のSSR遺伝子座の両方にリンクしていないと，いくつの異なる種類の子孫がどの割合で期待されるか？

c　大規模組換え体地図をつくるのにコンピュータ解析が必要か？

d　ヒトゲノムよりハエゲノムで，この種類の解析をするほうがなぜ簡単か？

e　ヒトゲノムの発表にともなって染色体上のDNA多型の順を決定する大規模連鎖地図をつくる必要性がなくなった。しかしながら，科学者はまだDNA多型を探している。例えば，いくつかの製薬会社はSNP共同事業体をつくって協力し，2003年に100万以上のSNPの同定を報告した。ヒトゲノムがすでに完了しているのに，なぜこれらの会社はSNPを探すのに大金を投資するのか？

f　ヒトゲノムに沿って等しく間隔を置いたDNAマーカーは1 cMの解像度の地図を作成するのにいくつ必要か？ゲノムに沿ったこれらのマーカーの平均の物理的間隔は何ヌクレオチドか？

問15

大規模連鎖地図には，ゲノムに散在している多くのDNA多型の解析を必要とする。他の3つの塩基のうち，1つによって塩基が特定の部位で置換されている1塩基置換多型（SNP）は，このような連鎖地図を構築するのに大変役に立つある種のDNA変異体を表す。この目的のために採用されるヒトSNPを，実際にはどのようにして見つけるか？

10.2

問16

細菌のゲノムに比較して，ヒトのゲノムにはタンパクをコードするDNAに対する全DNAの比率が非常に高い。この2つの異なる理由を挙げなさい。

問17

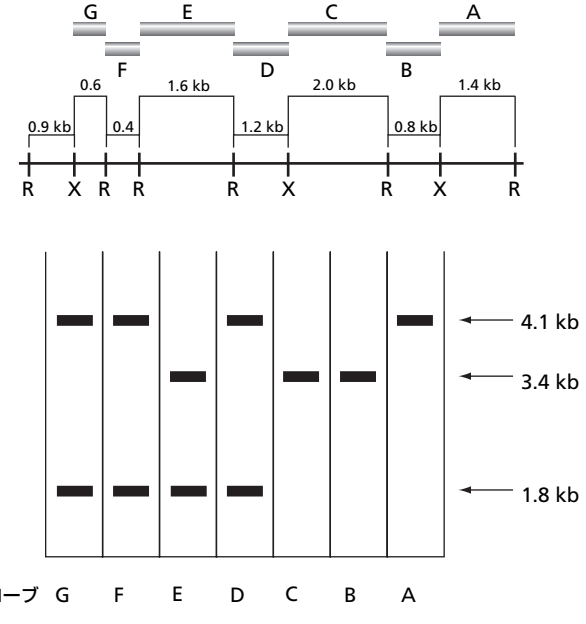
cDNAライブラリーを使って神経成長因子遺伝子のプローブとハイブリッドを形成する2つの異なるcDNAクローンを分離した。クローンの最初と最後の配列は同じであるが中間の配列は異なっている。異なるcDNAをどのように説明するか？

問18

cDNAライブラリーでは遺伝子についてどのような情報が欠けているか？

問19

ショウジョウバエのX染色体の部分の制限酵素地図が決定された。これを下の図に示す。ショウジョウバエの成虫のmRNAが精製され，アガロースゲルで大きさにしたがって分け，ニトロセルロース紙に移された。断片A–Gに対応する放射性の組換えDNAが分離したmRNAを含むニトロセルロース紙の同一コピーにハイブリッドを形成した。地図情報を使用して，観察された3つのmRNAにプロセシングされる3つの一次転写産物の各々を形成するDNAの転写される領域を示しなさい。また，制限酵素断片に対してエキソンとイントロンがどこにあるのかを示しなさい。



問20

男性と女性のヒト染色体の地図によって，2つの性で遺伝子間のセンチモーガン距離が異なることが示される。

a　この距離の違いは何を説明するか？

b　男性と女性の遺伝子間の物理的距離も異なると思うか？また，その理由を説明しなさい。

問21

クローニングしたゲノム領域内のヒト遺伝子をコードする

DNA配列を同定するのに使用する3つの独自の方法を挙げなさい。

問22

すべての反復配列がごみというわけではないことを示唆する，3つの結果を書きなさい。

問23

脊椎動物のDNAに見つかった興味深い現象は，偽遺伝子，ゲノムのどこかで見つかる機能のない遺伝子のコピーの存在である。偽遺伝子は染色体に挿入された完成したmRNAのDNA二本鎖のコピーのようである。これらの偽遺伝子の出所がcDNAであるという手がかりをどの配列情報が与えるか？

問24

遺伝子機能の解析のための下のモデル生物の各々の利点を挙げなさい。

a　酵母（*S. cerevisiae*）
b　線虫（*C. elegans*）
c　マウス（*M. musculus*）

問25

ヒトゲノム計画の新しい情報で，機能のわかっていない多くの新しい遺伝子が同定される。

a　DNA配列のどの特徴が新しく同定した遺伝子の機能を決定する助けになるか？
b　新しい遺伝子についてもっと知るのに役立つ，他の2つの種類の解析は何か？

問26

a　新しく同定した遺伝子にZnフィンガードメイン（DNA結合を促進する）を見つけたとすると，その遺伝子の機能についてどのような仮説を立てられるか？
b　別の遺伝子に，同じ生物で以前に同定した遺伝子と遺伝子全体で高い割合で相同性があることはもとになった遺伝子について何を示唆するか？

問27

4つの異なる生物のゲノムの配列を解読し，下に示す短い領域を比較する。

```
5′   AGGTATATAATTTGCG   3′
5′   CAATATAAAACCCTAC   3′
5′   GCGTATAAAAGAGCTA   3′
5′   TTATATATAAAGAAGT   3′
```

a　4つの領域に共通の配列を決定しなさい。
b　なぜ共通配列を決めたいのか？ 4つの配列が共通配列を決めるために比較する価値があるとどのように決めたのか？
c　タンパクのどのアミノ酸がその機能に最も決定的かを決めるために，共通配列を明確にする一般的な方法をどのように使うのか？

問28

ヒトゲノムの配列が解読されたが，遺伝子の正確な総数は未だにわからない。その理由を書きなさい。

問29

チンパンジーはヒトと非常に似た1組のヘモグロビン遺伝子をもっている（p.299，図9.20に示した）。例えば，両方の生物種のゲノムはα_1，α_2，β，$^{G}\gamma$，$^{A}\gamma$，δ，ε，ζをもっている。

a　ヒトとチンパンジーのヘモグロビン遺伝子の中でどれがホモログだと考えられるか。また，どれがパラログで，どれがオーソログであるか。
b　ゲノムを比較するとき，遺伝学者はどの遺伝子が異なる生物種で同一ではなくても，似た機能を実行するかを通常知りたがる。この決定は遺伝子ファミリーの場合には多少複雑である。パラログ遺伝子あるいはオーソログ遺伝子は機能的により同等か？ 説明しなさい。
c　ヒトβ遺伝子に最もヌクレオチドが類似している遺伝子はどれか？ チンパンジーのβ遺伝子かあるいはヒトのγ遺伝子か？ 説明しなさい。
d　図9.20（p.299）に描いたヘモグロビン遺伝子の間で重複と分岐のある2つの生物種のヘモグロビン遺伝子の型を合理的に説明しなさい。

問30

クラドグラムは進化の関係を描いた分岐図（「進化系統の樹」）である。分岐の末端は今日の種あるいは遺伝子あるいはタンパクを表す。分岐点はこれらの種あるいは分子が共通の先祖からいつ分岐したのかを伝える。

a　ある特定の遺伝子が（例えば細菌からヒトへ）水平伝達されたか，世代から世代へ長い時間かけて垂直に伝達されたかを遺伝子配列の分岐図はどのように区別するか？
b　水平伝達が起きているのなら，進化の過程でいつ伝達が起きたのかおよそどのようにして知ることができるか？
c　ある遺伝子が特定の種のゲノムから失われたかを認識できるか？

問31

発現ライブラリーから，1つのクローンを分離しクローニングした遺伝子によってつくられたタンパクに対する抗体をつくった。抗体を使用してマウス胚を染めたところ，タンパクは脳に局在した。ノーザン解析によって脳には3つのmRNAがあることが示された。これらのmRNAのうちの2つは脳以外の組織にも存在していた。多くの組織でRNAが存在するのに，タンパクは脳にしかないことを説明する仮説を提案しなさい。

問32

ヒトゲノムはおよそ2万5,000～3万個の遺伝子を，線虫ゲノムは1万9,000個の遺伝子をもっていることが完全なゲノム配列によって示された。ヒトゲノムがせいぜい線虫より1.3倍しか遺伝子を多くもっていないのに，驚くほど複雑な生物をコードできるのか説明しなさい。

10.3

問33

次の因子は，遺伝子治療実験の計画に対して技術的困難を生じる。これらの問題を回避する方法を提案しなさい。

a　真核生物の大きさの大きい遺伝子（ゲノムでは100 kbのDNAになる）

b　特定の組織で発現している遺伝子を得る必要性

問34

図10.22（p.333）に示したマイクロアレイ実験と同様な実験を考える。この実験では，各々の四角には，異なるヒト遺伝子をPCRで増幅した断片があり，赤色で標識したプローブはヒトの肺腫瘍のcDNAで，緑色で標識したプローブは正常の肺組織のcDNAである。

a　蛍光シグナルが黒色，緑色，赤色，黄色の結果をどのように説明するか？

b　そのタンパクの活性ががんの一因になるタンパクを不活化する抗がん剤を探しているとすると，マイクロアレイで表されたどの遺伝子がそのような薬になる可能性のある標的として適したタンパクをコードしているか？

問35

2人の人のゲノムのある領域がPCRによって増幅され，一方の人のPCR産物はローダミン（赤色の蛍光を発する）で標識され，もう一方の人のPCR産物はフルオレセイン（緑色の蛍光を発する）で標識された。これらのPCR産物は混合され，オリゴヌクレオチドマイクロアレイでハイブリッドを形成し，下の結果を得た。



アレイのオリゴヌクレオチドは下のようである。

```
M1:  5′  ACTTACCGAGAGAACCTGCG  3′
M2:  5′  ACTGACCGAGAGAGCCTGCG  3′
M3:  5′  ACTTACCGAGAGAGCCTGCG  3′
M4:  5′  ACTCACCGAGAGACCCTGCG  3′
M5:  5′  ACTCACCGAGAGATCCTGCG  3′
M6:  5′  ACTGACCGAGAGAACCTGCG  3′
```

a　可能な限り正確に，2人の遺伝子型を述べなさい。

b　PCR産物を上のようにオリゴヌクレオチドマイクロアレイにハイブリッドを形成したことにより，直接配列を解読すると，なぜ2人の特定の個人に遺伝子型を割り当てるときにあいまいになるのか？

c　ヒトの遺伝病の診断道具として，オリゴヌクレオチドマイクロアレイによる解析はどのような価値があるか？