## 練 習 問 題

### 用語

**問 1**

次のa～iの用語に最もよく合致するものを，下の1～9から選びなさい。

**a**　テロメア
**b**　Gバンド
**c**　キネトコア
**d**　ヌクレオソーム
**e**　ARS
**f**　サテライトDNA
**g**　クロマチン
**h**　SAR
**i**　ヒストン

**1**　スカフォールド（足場構造）にクロマチンのループをつなぎ留めるループのつけ根部分
**2**　酵母の複製起点
**3**　高等真核生物のセントロメア付近で見つかるDNAの繰り返し配列
**4**　直鎖状染色体の末端にある構造
**5**　真核生物細胞の核内にあるDNAとタンパクの複合体
**6**　DNAに結合してヌクレオソームのコアとなる小さな塩基性タンパク
**7**　紡錘糸が染色体に結合する領域にあるDNAとタンパクの複合体
**8**　DNAがヒストンタンパクのまわりに巻きついてできるビーズのような構造体
**9**　染色の違いで区別される染色体の領域

### 13.1

**問 2**

ヒストン以外にも多くのタンパクが染色体に結合している。これらの非ヒストンタンパクはどのような役割を果たしているか？ また，なぜヒストンより非ヒストンタンパクのほうが種類が多いのだろうか？

### 13.2

**問 3**

分裂中期と間期では染色体の凝集にどのような違いがあるか？

**問 4**

染色体の凝集に対するコアヒストンの役割をヒストンH1の役割と比較して述べなさい。

**問 5**

**a**　ヌクレオソームの間隔が平均200 bpであるとすると，S期を終了したばかりの典型的なヒト細胞では，およそ何分子のヒストンH2Aが必要だろうか？
**b**　新しいヒストンタンパクの合成では，細胞周期のどの段階が最も重要か？
**c**　ヒトのゲノムにはヒストンの分子種（H1，H2A，H2B，H3，H4）それぞれについて10～15個の遺伝子があり，合計60個のヒストン遺伝子がある。ヒトゲノムに各ヒストン遺伝子がそれぞれ複数個あるのはなぜだろうか？

**問 6**

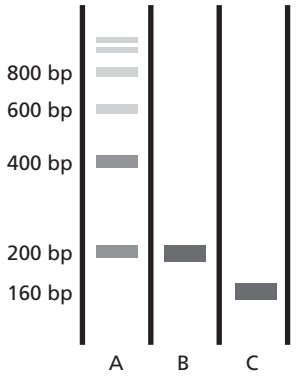
**a**　染色体の短腕と長腕を表すのに使われるアルファベットの文字は何か？
**b**　短腕はそれぞれに2本のバンドがある3つの領域からなり，長腕はそれぞれに3本のバンドがある5つの領域からなっているような仮想の第3染色体の模式図を描きなさい。また，それぞれの腕，領域，バンドがわかるように表記し，3p32の位置にある遺伝子を図中に示しなさい。

**問 7**

1倍体ヒトゲノムの30億塩基対について高解像度の核型分析を行うと，およそ2,000本のGバンドが見える。このゲノム中に含まれる遺伝子の数をおよそ3万個とすると，核型分析で検出されるDNAの欠失によっておよそ何個の遺伝子が取り除かれていることになるだろうか？

**問 8**

ミクロコッカス・ヌクレアーゼは一本鎖および二本鎖DNAのフォスフォジエステル結合を切断するが，タンパクに結合しているDNAはミクロコッカス・ヌクレアーゼによる切断を受けない。真核生物のクロマチンを短時間ミクロコッカス・ヌクレアーゼで処理し，DNAを抽出して電気泳動し，エチジウムブロマイド染色を行って分析したところ，次の図のAのようなバンドがみられた。ミクロコッカス・ヌクレアーゼによる処理時間を延ばすと，電気泳動の結果は図のBのようになり，さらに長時間処理するとCのようになった。どうしてこのような結果が得られたのかを説明しなさい。




**問9**

ヒストンH1は30 nm（300 Å）繊維の形成に重要な役割を果たしているようだが，他のヒストンタンパクは30 nm（300 Å）繊維の形成には関与していないようだ。これが正しいと考えられる理由を答えなさい。

**問10**

クロマチン構築因子（CAF-1）は，ヒト細胞抽出物の中から生化学的手法で同定されたタンパク複合体である。これらのタンパクのアミノ酸配列は決定されている。

**a**　酵母にある相同な遺伝子を探すとき，このデータをどのように利用すればいいだろうか？

**b**　染色体の構築についての理解を深める上で，酵母における相同な遺伝子を同定することの意義を述べなさい。

**問11**

ヒストンH3とH4は，生物種にかかわらず，一定の決まった方法で修飾される。修飾の1つはヒストンH4の12番アミノ酸リシンへのアセチル基の付加である。もし，あなたが酵母を使って遺伝学の研究をしており，クローニングされたH4遺伝子をもっているならば，この特定のリシンのアセチル化がクロマチンの機能にとって必要かどうかを調べるためにどのような実験をしたらよいだろうか？

## 13.3

**問12**

**a**　ヒトの染色体のセントロメア領域では，どのようなDNA配列が共通してみられるだろうか？

**b**　セントロメアに結合するタンパク複合体であるコヒーシンとキネトコアは，染色体の機構に対してどのように機能するかを述べなさい。

**問13**

ヒトゲノムにはおよそ30億個の塩基対がある。受精後のヒトの胚における最初の細胞分裂の際，S期の長さは約3時間である。DNAポリメラーゼの合成速度がS期を通じて平均で毎秒50ヌクレオチドであると仮定すると，ヒトゲノム中に複製起点は最低何個あると予想されるか？

**問14**

**a**　分裂期の染色体の分離の過程がうまくいかなくなる変異の種類を少なくとも3種類挙げなさい。そして，どのようなDNA構造に起こった変異，あるいはどのような種類のタンパクをコードしている遺伝子に起こった変異が染色体の分離ができない変異になるかをそれぞれ説明しなさい。

**b**　酵母人工染色体（YAC）を用いてパン酵母（*S. cerevisiae*）でそのような変異を見つける方法を述べなさい。

**問15**

キイロショウジョウバエ（*D. melanogaster*）の初期胚における体細胞分裂の速度は非常に速い（8分ごとに起こる）。

**a**　各染色体の中央に二方向（両方向）性の複製起点が1個ずつあると仮定すると，初期胚の分裂周期の8分間に最も長い染色体（66 Mb）のすべてのDNAが複製されるためには，DNAポリメラーゼは1秒間に何個のヌクレオチドを付加しなければならないか？ ただし，細胞周期の時間すべてが複製に使われると仮定する。

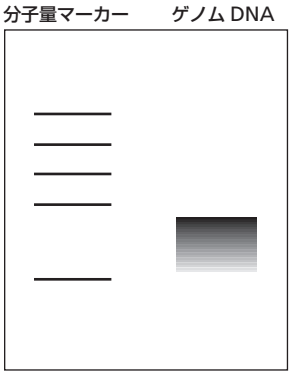
**b**　実際には，初期胚が細胞分裂を行っている間は各染色体に活性のある複製起点が多数あり，およそ7 kbごとの間隔で存在している。キイロショウジョウバエの初期胚において，DNAポリメラーゼが相補的なヌクレオチドを合成中のDNA鎖に付加する平均速度（1秒あたりの）を計算しなさい。

**問16**

染色体の最末端（テロメア）にはDNAの繰り返し配列が含まれている（例えばヒトでは5′ TTAGGG 3′）。ゲノムDNAのブロットを3′ AATCCC 5′というプローブとハイブリッドを形成させると，染色体末端の断片はすべてこのプローブとハイブリッドを形成することになる。

**a**　ある特定の染色体の末端をハイブリッド形成法によって調べるには，何をプローブとして用いなければならないか？

**b**　1本の染色体の末端に特異的なプローブを使って，サザンブロットを行うと，不鮮明に広がった1本のバンドが見える（次の図参照）。どうして染色体内部の配列と結合するプローブの場合にみられるような鮮明なバンドにならないのだろうか？




### 問 17

テロメラーゼという酵素は，生物種に応じた末端配列の付加を行う鋳型配列を含むRNAとタンパクとで構成されている。繊毛のある原生動物テトラヒメナ（*Tetrahymena*）のテロメア配列（TTGGGG）を直鎖状YACの末端につなぎ，酵母細胞に導入した。そのYACは直鎖状DNAとして生き残ったが，最末端にTTGGGG配列に加えてTGGTGGという配列をもつようになった。なぜこのような配列をもつようになったのだろうか？

### 問 18

CENP-BとCENP-Aは，ともにセントロメアの機能にかかわるタンパクである。CENP-Bは細胞が生き残るために必須ではないが，CENP-Aは必須である。

**a**　酵母においてCENP-Bの温度感受性の対立遺伝子をもつ変異体とCENP-Aの温度感受性の対立遺伝子をもつ変異体があるとき，温度を上げると，それぞれの変異体について，生存についてどのような表現型が現れると予想されるか。また，染色体欠損についてはどのような表現型が現れるだろうか。

**b**　これらの変異体における染色体欠損を検出する検査法について説明しなさい。

### 問 19

細菌のプラスミドpBR322に酵母由来の下の配列を導入した。成長にウラシルを必要とする酵母（$Ura^-$細胞）をこのプラスミドで形質転換し，ウラシルを欠く培地で成長させることによって$Ura^+$になったコロニーを選択した。下の配列を導入されたプラスミドについて，プラスミドは染色体に組み込まれていると予想されるか，それともゲノムとは独立にプラスミドとして維持されていると予想されるかをそれぞれ答えなさい。また，プラスミドが自律的に維持されていると考える場合，そのプラスミドは培地で$Ura^+$に対する選択を行わなくても，安定して次の世代の娘細胞に受け継がれていくだろうか（すなわち，ウラシルを含む培地で成長できるだろうか）。

**a**　$URA^+$遺伝子

**b**　$URA^+$遺伝子，ARS

**c**　$URA^+$遺伝子，ARS，CEN（セントロメア）

### 問 20

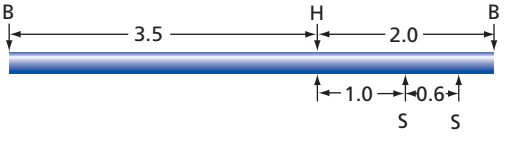
CBF1と呼ばれるタンパクは，酵母でセントロメア結合タンパクとして同定された。ヒトの細胞にも相同なタンパクがあるかどうかを調べたい。

**a**　ヒトの活発に増殖している細胞から得たcDNA発現ライブラリーから始めて，酵母の遺伝子に相同性のあるヒトの遺伝子を含むcDNAをクローニングするにはどうすればよいか？

**b**　酵母の遺伝子に相同性のあるヒトの遺伝子がクローニングできたとしよう。この，ヒトの遺伝子にコードされたタンパクがヒトのセントロメア領域に結合するかどうかを調べるにはどうすればよいか？

### 問 21

酵母のセントロメアDNAを含むDNA断片をTRP ARSプラスミドのYRp7にクローニングした。その結果，このプラスミドは細胞分裂に対して非常に安定になった（すなわち，分裂を経ても安定してそれぞれの娘細胞に分配された）。分裂に対する安定性評価は，形質転換させた細胞をプラスミドに対する選択を行わない条件で増殖させ，20世代後に残っている$Trp^+$のコロニーの数を調べることによって行った。クローニングされたDNA断片のどの領域にセントロメアDNAが含まれているのかを同定するためには，もとのDNA断片をさらに小さな断片に切り分け，これらの小断片をYRp7に組み込んで分裂に対する安定性を調べた。以下に示したDNA断片の地図と分裂に対する安定性評価にもとづけば，セントロメアのDNAが組込まれている場所はどことわかるか。




分裂に対する安定性評価の結果

| プラスミドDNA | 20世代後の$Trp^+$のコロニー数 |
|---|---|
| YRp7 | 0.9 |
| YRp7＋5.5 kb *Bam*HI（B） | 68.1 |
| YRp7＋3.5 kb *Bam*HI-*Hind* Ⅲ（H） | 0.5 |
| YRp7＋2.0 kb *Bam*HI-*Hind* Ⅲ | 80.3 |
| YRp7＋0.6 kb *Sau*3A（S） | 76.2 |
| YRp7＋1.0 kb *Hind* Ⅲ-*Sau*3A | 0.7 |

### 問22

ゲノム分析のために開発された，大きなDNA断片をクローニングするためのベクター系として，節足動物に感染するバキュロウイルス由来のBACベクターがある。このBACベクターがYACと比較して有利な点は，BACにクローニングされたDNAは再編される可能性が低いことである。BAC系ライブラリーとYAC系ライブラリーのそれぞれから同じプローブを使って，ヒトの*Sfi*I 断片のクローンを得た。ところが，これらのクローンを*Hind* Ⅲで消化して得られた断片は両者で大きく異なっていた。2つのクローンのうちのいずれかでヒトゲノム中にあるのと同じ大きさの*Hind* Ⅲ断片がヒトゲノム中にあるのと同じ順序で入っているとすると，どちらのクローンがそれに該当するのかを決めるにはどうすればよいか？

## 13.4

### 問23

次のそれぞれ2種類のクロマチンのうち，凝集度が高いほうはどちらか。

**a**　10 nm繊維と30 nm繊維
**b**　30 nm繊維とスカフォールドに結合したDNAループ構造
**c**　真正クロマチンとヘテロクロマチン
**d**　間期染色体と分裂中期染色体

### 問24

X染色体上のどの配列がX染色体の不活性化に必要であると認められているか？ また，この配列の特性を述べなさい。

### 問25

次の生物における構成的ヘテロクロマチンと条件的ヘテロクロマチンの例を挙げなさい。

**a**　キイロショウジョウバエ
**b**　ヒト

### 問26

キイロショウジョウバエの研究者たちは，斑入り位置効果の状態が変わる多くの変異体を分離してきた。優性の斑入りサプレッサー *Su*(*var*)があると，染色体の再編によってヘテロクロマチンの近くに移動した遺伝子の不活性化が起こりにくくなる。逆に，優性の斑入りエンハンサー *E*(*var*)があると，ヘテロクロマチンの近くに移動した遺伝子はより高頻度に不活性化される。

**a**　これらの2つの変異の1つがあると，キイロショウジョウバエの*white*遺伝子の斑入り位置効果に対してそれぞれどのような影響があるか？
**b**　これらの*Su*(*var*)や*E*(*var*)の変異が，対応する遺伝子の機能喪失型（ナル変異）の対立遺伝子によるものとすると，これらの遺伝子がコードしているのはどのようなタンパクか？

### 問27

次のような核型をもつヒトでは，何個のバー小体がみられるか？

**a**　XX型の女性
**b**　XY型の男性
**c**　XX型の男性（例外的な男性*）
**d**　XXY型の男性
**e**　XXXX型の女性
**f**　XO型の女性

*例外的なXX型の男性の場合，X染色体の1本に，通常X染色体にある遺伝子のすべてに加えて，男性の発生に必要とされる精巣決定因子（TDF）を含むY染色体由来の小さな領域がある。

### 問28

ある双子の姉妹は，1人がデュシェンヌ型筋ジストロフィを発症するまでは，一卵性双生児と思われていた。デュシェンヌ型筋ジストロフィはX染色体に連鎖した形質である。彼女の妹にはこの病気は起こらなかった。このことから，この姉妹が一卵性双生児（1個の受精卵から生じた双子）ではないと断定できるだろうか？ また，それはなぜか？

### 問29

$X^{CB}$ $X^{cb}$の遺伝子型をもつ女性は，部分的に色覚異常の症状を示すことはあるが，完全に色覚異常であることは稀である。なぜこういうことが起こるのか推測しなさい。

### 問30

ネコでは，X染色体に連鎖した*orange*遺伝子の優性の*O*対立遺伝子が茶色の毛皮になるために必要とされる。この遺伝子の劣性の*o*対立遺伝子は，毛皮を黒色にする。

**a**　二毛猫は黒色の毛皮に茶色のまだらが入ったものだ。この二毛猫のおよそ90%は雌である。どのように交配すると，雌の二毛猫が生まれるだろうか？
**b**　雄の二毛猫がどのようにして生じるのかを説明する仮説を示しなさい。
**c**　三毛猫（ほとんどが雌である）の毛皮は白色，茶色，黒色がまだらになっている。三毛猫がどのようにして生じるのかについての仮説を示しなさい。

### 問31

オポッサムやカンガルーなどの有袋類の動物は，X染色体を不活性化するとき，父親由来のX染色体を選択的に不活性化する。

**a**　有袋類の母親がX染色体に連鎖した毛皮の色を決める遺伝子の変異型対立遺伝子についてホモ接合で，父親はこの遺伝子の野生型対立遺伝子をヘミ接合でもっている場合，交配で生じる子の毛皮の色の表現型を雄，雌それぞれについて予想しなさい。

**b**　有袋類の父親がX染色体に連鎖した毛皮の色を決める遺伝子の変異型対立遺伝子についてヘミ接合で，母親はこの遺伝子の野生型対立遺伝子をホモ接合でもっている場合，交配で生じる子の毛皮の色の表現型を雄，雌それぞれについて予想しなさい。

**c**　有袋類ではX染色体に連鎖した毛皮の色を決める遺伝子の対立遺伝子について議論するときに“優性”，“劣性”という用語が役に立たないのはなぜか？

**d**　X染色体に連鎖した毛皮の色を決める遺伝子の2つの対立遺伝子についてヘテロ接合の有袋類は，どうして問30の二毛猫のような2つの異なる色がまだらになった毛皮にならないのか？