練 習 問 題

用語

問 1

次のa～mの用語に最もよく合致するものを，下の1～13から選びなさい。

a　モザイク決定
b　調節決定
c　単数機能不全
d　RNAi（RNA干渉）
e　異所性発現
f　ホメオドメイン
g　緑色蛍光タンパク（GFP）
h　遺伝子モザイク
i　体節形成遺伝子
j　ホメオティック遺伝子
k　モルフォゲン
l　母系効果遺伝子
m　情報伝達経路

1　体を同一の単位（体節）に分ける。
2　リガンドの受容体への結合によって始まる。
3　1つ以上の遺伝子型の細胞をもつ個体
4　初期胚の運命は環境によって変化する。
5　体節の特徴を割り当てる。
6　その濃度によって，細胞の運命が決まる物質
7　二本鎖RNAによる遺伝子発現の抑制
8　ナル（全機能欠失）対立遺伝子が野生型対立遺伝子に対して優性なとき
9　ある種の転写因子に見つかるDNA結合モチーフ
10　未受精卵に蓄積するタンパクをコードし，胚発生に必要とされる。
11　初期胚の細胞が特異的な運命を割り当てられる。
12　ある遺伝子が不適切な組織，もしくは不適切なときに発現が開始される。
13　生きている細胞中のタンパクを追跡するために使われるタグ

20.1

問 2

a　ヒトの心臓の胚発生における特定の遺伝子の役割に興味があった場合，モデル生物でこの役割を研究する理由と，どのモデル生物を選ぶかを述べなさい。
b　ヒトの心臓の発達に必要な新規の遺伝子を発見することに興味があった場合，モデル生物でこれらの新規の遺伝子を探す理由と，どのモデル生物を選ぶかを述べなさい。

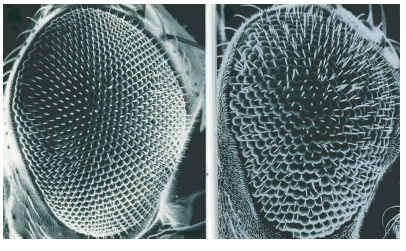
問 3

線虫の初期胚はモザイク決定されているが，一方，マウスの初期胚は調節決定されている。もし，次の処理がこの2種のそれぞれの4細胞胚で行われた場合（これらの処理が現実的に実行できることを想定する），期待される結果を予測しなさい。

a　レーザーで4細胞の1つを破壊する（この処理は**レーザー切除**と呼ばれている）。
b　4つの細胞をバラバラにして，培養する。
c　4細胞期の胚2つからの細胞を融合して，8細胞期の胚をつくる。

20.2

問4～7は，*rugose*（*rg*）と呼ばれるショウジョウバエの遺伝子に関してである。この遺伝子の劣性変異のホモ接合体の成虫のハエは，個眼（*ommatidia*）と呼ばれる眼の単位の正常な形態を失い，表面がでこぼこした眼（rough eye）をもつ。下に走査型電子顕微鏡写真での比較を示す。左が滑らかな野生型の眼で右が*rugose* 変異体のでこぼこの眼である。眼の正常な形態の喪失は，個眼のいわゆる**錐体細胞**と呼ばれる細胞が1つ以上，欠損することによって生じる。一方，野生型では，各個眼は4つの錐体細胞をもつ。



問 4

1932年に，H. J. マラーは，表現型が野生型に比べて劣性であり，特定の変異がナル〔マラーはこれを**非定形**（amorphic）と呼んだ〕か，機能低下な対立遺伝子かを見分ける遺伝的な試験を提案した。マラーの試験は，劣性変異のホモ接合体の表現型と，一方の染色体は問題の劣性変異をもち，もう一方はその遺伝子を含む大きい範囲の欠失をもつヘテロ接合体の表現型とを比べるというものだった。

マラーの試験を用いた最近の研究で，rg^{41} と $rg^{\gamma 3}$ と名づけられた*rugose*遺伝子の2つの変異体が調べられた。遺伝子型ごとのハエの眼の表現型は次の表に示した。*Df*（*1*）*JC70*は，*rugose*とその周辺の遺伝子いくつかを含む大きな欠失をもつ。

遺伝子型	眼の表面	個眼ごとの錐体細胞の数
野生型	なめらか	4
rg^{41}/rg^{41}	少しでこぼこ	2～3
$rg^{41}/Df(1)JC70$	中程度のでこぼこ	1～2
$rg^{\gamma 3}/rg^{\gamma 3}$	かなりでこぼこ	0～1
$rg^{\gamma 3}/Df(1)JC70$	かなりでこぼこ	0～1

a　対立遺伝子rg^{41}と$rg^{\gamma 3}$のどちらがより強い（つまり，より重度の表現型の原因となる）か？

b　どちらの対立遺伝子が，機能するRugoseタンパクをより多くつくれるか？

c　マラーの試験はどのようにナルと機能低下を見分けるか？ マラーの試験を論理的に説明しなさい。また，表に示された結果から考察して，この2つの変異のどちらかが，*rugose*のナル対立遺伝子であると思われるか？ もし，そうであるならば，それはどちらか？

問5

現在では，ショウジョウバエの*rugose*遺伝子の分子レベルの解析がなされている。*rugose*遺伝子mRNAのcDNAクローンや，Rugoseタンパクを認識する抗体も利用できる。問4で考えた研究法の他に，新しく発見された*rugose*の劣性対立遺伝子がナルか，機能低下かを決めるいくつかの方法について簡単に述べなさい。

問6

$rg^{\gamma 3}/rg^{\gamma 3}$の遺伝子型をもつハエでは，約35%の受精卵が孵化できず，幼虫になれないということがわかった。一方，野生型の受精卵で，幼虫になれないのはわずか3%だった。

a　問4で示されたデータを考慮して，どの発生時期のどの組織がRugoseタンパクの機能を必要としているか予測しなさい（注：成虫のハエの眼は，胚や幼虫ではまだつくられておらず，代わりに幼虫の成虫原基と呼ばれる組織から発生する）。

b　どのように考えて，*rugose*遺伝子がaで予測した組織で発現しているとしたのか？ それらの組織での遺伝子の発現は，Rugoseタンパクがそこで不可欠な機能をもつということを証明するか？

問7

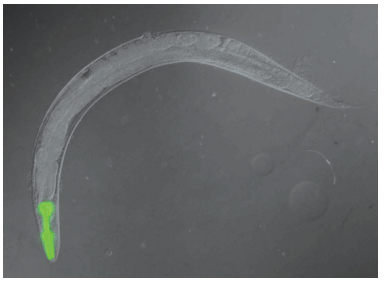
rugose（*rg*）遺伝子は，ショウジョウバエのアクロセントリック型のX染色体のセントロメア（動原体）とテロメアの間の中ほどに位置している。眼の色をつかさどる*white*遺伝子は，X染色体のテロメア近くに位置しており，優性のw^+対立遺伝子は，眼の細胞を赤色にし，一方w^-は，眼の細胞を白色にする。X線を幼虫に照射することにより，図5.24（p.140）に示したような体細胞分裂での組換えを誘導できる。

a　眼の一部の細胞は，*rugose*と*white*の両方の変異遺伝子のホモ接合体で，その他の細胞は両方の変異遺伝子と野生型遺伝子のヘテロ接合体という，モザイク眼をもつハエの成虫を体細胞分裂での組換えによりつくることができる。体細胞分裂での組換えによりこのようなモザイク眼を生じる，これらの2つの遺伝子の変異体と野生型の配置を図示しなさい。

b　ある個眼でのRugoseタンパクの欠損が隣接する個眼の正常な発生に影響を与えるかどうかを決めるために，どのようにこの系の体細胞分裂での組換えが使えるか？

c　議論のため，*rugose*の真のナル変異のホモ接合体のすべてのハエが胚で死ぬと仮定したとき，成虫の眼の発生におけるRugoseタンパクの完全な欠損による影響を決めるために，どのようこの系の体細胞分裂での組換えが使えるか？

問8～11は，線虫に形質転換された*myo-2::GFP*と呼ばれる組換えDNA断片に関してである。下の写真に示すように，この断片を含む線虫は，その咽頭で緑色蛍光タンパク（GFP）を発現する。咽頭は，口と消化管の間にある器官で，線虫が食べた細菌をすりつぶす。咽頭によって，細菌は食料源となる。*myo-2::GFP*断片は，咽頭の筋細胞で特異的に発現する遺伝子，*myo-2*のプロモーターの下流にクラゲのGFPのオープンリーディングフレームがクローニングされたものである。



問8

a　咽頭の構造が破壊される変異を見つけるために，この*myo-2::GFP*が形質転換された線虫をどのように使えるか説明しなさい。

b　*pha-4*と呼ばれる遺伝子の機能喪失変異のホモ接合体の線虫では，咽頭の構造がまったく見当たらない。このような線虫の運命はどのようになるか？

c　眼の発生を制御する*Pax-6*遺伝子，*eyeless*遺伝子と同じように，*pha-4*が咽頭の発生を制御する1番重要な調節遺伝子かどうかを決めるために，*myo-2::GFP*はどのように使えるか？

問9

*myo-2*プロモーター領域内のどのDNA配列が，*myo-2*遺伝子の咽頭の特異的な発現に必要かを決めるために，*myo-2::GFP*の写真はどのように使えるか？

問10

ある遺伝子*X*が咽頭の発生に重要であるかどうかを決めたいが，この遺伝子の変異は咽頭の構造が現れる前に胚の発生を止めてしまうと仮定する。咽頭での遺伝子*X*の発現がなく，その他のすべての組織では野生型のように遺伝子*X*が発現する線虫をつくるために，*myo-2::GFP*，*myo-2*プロモーター，遺伝子*X*のDNA配列，RNA干渉（RNAi）の知識はどのように使えるか？

問11

線虫の形質転換には，通常，雌雄同体の生殖腺の中にDNAを注入する作業が必要である。DNAは卵母細胞に組込まれるが，通常，注入されたDNAどうしが組換えを起こし，染色体外DNAをつくる。これらの染色体外DNAは，低い頻度であるけれども，分裂中になくなり，染色体外DNAを含まない細胞をつくる。ある細胞は遺伝子*X*のナル変異のホモ接合体で，その他の細胞は遺伝子*X*の活性をもつというモザイク咽頭をもった線虫をつくるために，*myo-2::GFP*はどのように使えるか？　ただし，遺伝子*X*のナル変異とゲノムDNAの両方が使えると仮定する。

問12

図20.5（p.635）には，相同組換えを使った遺伝子ノックアウトマウスのつくり方が示してある。マウスのゲノムを操作するための，もっと技術的に単純なもう1つの方法は，受精卵の前核の中にDNAを注入し，その注入された1細胞期の胚（前核期の胚）を雌の卵管に移植するという“追加”方式である。この“追加”方式では，注入されたDNAはさまざまなゲノムの場所にランダムに組込まれる。次の場合，ノックアウトと追加方式のどちらを使ったほうがよいか示しなさい。また，その決定の根拠と具体的な方法について説明しなさい。

a　発生において，ある特定のミスセンス変異が劣性で，有害な影響を示すヒトの遺伝病のモデルマウスをつくる場合。

b　発生において，ある特定のミスセンス突然変異が優性で，有害な影響を示すヒトの遺伝病のモデルマウスをつくる場合。

c　ある遺伝子を通常発現しない組織で，異所性発現させたときの影響を調べたいとき。

d　ある遺伝子を欠失したときの単数機能不全の有害な影響を調べたいとき。

e　ある特定の遺伝子の欠失したホモ接合体の有害な影響を調べたいとき。

f　RNA干渉によって，特定の遺伝子の機能を抑制したいとき。

h　ある遺伝子を特定の組織でのみ発現するように調節するシス（DNA）配列を見つけたいとき。

i　変異体の動物で観察された異常な発生において，ある候補遺伝子が特定の表現型の原因と考えられ，その遺伝子のDNAの中に多型があることを証明したいとき（実際に表現型の原因となる変異は，機能喪失変異であると仮定する。この変異が野生型に対して劣性である場合と優性である場合を別々に考察しなさい）。

問13

問12で説明したように，遺伝子組換えマウスをつくるために“追加”方式が使われたとき，注入されたDNAは，どの染色体にもランダムに組込まれる。その後，組換えマウスの交配により，組換えDNAをもつ遺伝子のホモ接合体のマウスがつくられる。ときどき，DNAの挿入そのものにより，興味深い表現型が得られる。1例としては，マウス乳がんウイルス（mouse mammary tumor virus：MMTV）のプロモーターと融合したc-*myc*遺伝子を含むDNAの挿入後，手足の奇形を生じる劣性変異が見つかった。このマウスでは，先の方に位置する骨が減少し，互いに融合していた。また，この変異は腎臓の異常の原因でもあった。

a　この変異の表現型は，MMTV組換え遺伝子，c-*myc*組換え遺伝子が染色体のある特定の領域に挿入されたことにより生じた可能性とそのマウスで偶然生じた突然変異による可能性がある。これらの2つの可能性をどうやって区別するか？

b　この例の変異は，実際に組換え遺伝子の挿入によって生じていた。この挿入された組換え遺伝子をマーカーとしてどのようにクローニングに利用するか？

c　この挿入変異は，マウスの第2染色体のすでに特定されている手足奇形（limb deformity：*ld*）と呼ばれる変異の領域にマッピングされた。*ld*変異とこの挿入変異が同一の遺伝子の変異かどうか，どのように調べればよいか？

20.3

問14

ショウジョウバエの*hunchback*遺伝子の性質でないものは，次のどれか？

a　*hunchback* mRNAは母親由来で，卵に均一に分布している。

b　*hunchback*の転写は，Bicoid（前部モルフォゲン）に促進される。

c　*hunchback* mRNAの翻訳は，Nanos（後部モルフォゲン）に阻害されている。

d　Hunchbackタンパクの分布は，徐々に勾配をつくる（前部：高濃度，後部：低濃度）。

e　Hunchbackタンパクが*bicoid* mRNAの局在を制御する。

問15

*hunchback*遺伝子は，プロモーター領域，構造遺伝子領域（アミノ酸コード配列），3′非翻訳領域（untranslated region：3′ UTR）を含む。なお，3′非翻訳領域とは，転写されてmRNAの3′末端配列になるが，アミノ酸には翻訳されない領域のDNAである。

a　*hunchback*遺伝子のプロモーター領域で見つかった，*hunchback*の発現を制御するのに必要な重要な配列は何か？

b　*hunchback*の構造領域で見つかった，特定のタンパクドメインをコードする配列を何というか？

c　もう1つ重要な配列があり，その配列は*hunchback* mRNAの3′ UTRに転写されるDNA領域に位置していることがわかった。この配列は何をしていると考えられるか？

問16

セグメントポラリティ遺伝子の作用機構は，ギャップ，ペアルール遺伝子とどのように異なるか？

問17

初期の胚発生学者によってなされた実験に似た注入実験により，Bicoidが前部決定因子であることが示された。注入実験とは，卵からの細胞質や*in vitro*で合成されたmRNAのような成分を直接卵に注入する実験である。Bicoidが前部決定因子であると示すことができる注入実験について説明しなさい。

問18

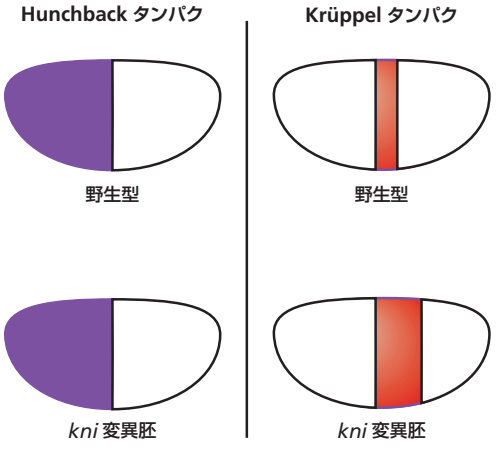
nanos^{-}の母親が産んだ卵では，腹部の発生が阻害される。母親由来の*hunchback* mRNAをもたない卵から発生したハエは正常である。*nanos*$^{-}$の母親が産んだ卵で，さらに母親由来の*hunchback* mRNAをもたないハエの発生は正常である。Hunchbackタンパクが卵の後部に異常に多く存在すると，腹部の発生が阻害される。

a　これらの結果から，Nanosタンパクと母親由来の*hunchback* mRNAの機能について何がいえるか？

b　これらの結果から，進化の効率について何がいえるか？

問19

HunchbackとKrüppelタンパクの局在を調べるために，ギャップ遺伝子，*knirps*（*kni*）を欠損した変異胚を多核体胞胚葉期で染色した。下図は，HunchbackとKrüppelタンパクを染色した*knirps*$^{-}$と野生型の胚の結果が図示したものである。



a　これらの結果より，これら3つの遺伝子の関係についてどのように結論づけられるか？

b　*nanos*$^{-}$の母親由来の胚でのHunchbackタンパクの局在形式は，示されている局在と異なると考えられるか？もしそうなら，その違いを説明し，理由を述べなさい。もし，違いがないなら，その理由を説明しなさい。

問20

*Ubx*遺伝子機能喪失変異のハエでは，体節の変化は常に前方方向へ起こる。つまり，*bx*変異では，T3前部がT2前部へと変化し，一方，*pbx*変異では，T3後部がT2後部へと変化する。野生型では，*Ubx*遺伝子自体はT3～A8で発現しており，T3で最も強く発現している。

a　*Abd-B*遺伝子はA5～A8の体節内で転写されている。*Abd-B*の機能のしかたが*Ubx*の機能のしかたと同じであると仮定するとき，*Abd-B*のヌル変異のホモ接合体ではどのようなことが起こるか（どの体節の変化がみられるか）？

b　*Abd-A*はA1～A8の体節内で発現しているので，A5～A8の体節内では，BX-Cの3つの遺伝子（*Ubx*，*Abd-A*，*Abd-B*）のすべて転写がいくらか行われている。A5，A6，A7，A8体節の形態的な違いはなぜ生じるのか？

c　BX-Cの3つの遺伝子（*Ubx*，*Abd-A*，*Abd-B*）のすべ

てを欠失した動物では，どの体節の変化がみられるか？

d BX-C内のある*contrabithorax*変異では，翅が平均棍に変化する。特定の体節での*Ubx*遺伝子の転写にもとづいて，この表現型を説明しなさい。また，*contrabithorax*変異は，野生型に対して優性か劣性かを推測し，その理由を説明しなさい。

e 野生型の発生では，*Antp*はT1，T2，T3で発現し，T2で最も強く，T3では弱くしか発現していない。*Ubx*ナル変異の動物では，*Antp*は野生型に比べてT3でかなり高レベルに発現している。*Ubx*と*Abd-A*の両方を欠失した動物では，*Antp*は，T2とT3，腹部体節A1～A5で高レベルに発現している。BX-Cの3つの遺伝子すべてを欠失した動物では，*Antp*はT2とT3，腹部体節A1～A8で発現する。BX-Cの3つの遺伝子はホメオドメインをもつタンパクをコードしていることから，これらの遺伝子がどのように体節を特徴づけているのか説明するモデルを提案しなさい。

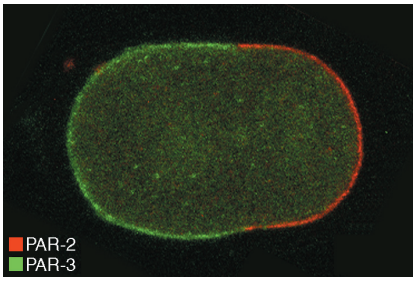
20.4

問21

初期胚の発生に影響する変異を，まだその変異が研究されたことがないモデル生物で探すとき，母親由来のタンパクをコードする遺伝子と，受精後初めて転写が開始される遺伝子を別々に遺伝的にスクリーニングする必要があるのはなぜか？ この両方の場合に，どのようなスクリーニングを行えばよいか？

問22

線虫の未受精卵では前後の方向性がまだ決まっておらず，胚の極性は精子の入る場所が後端になることで決まる。受精後のほんのわずかな時間で，未受精卵では均一に広がっている，いわゆるPARタンパク（“partitioning”分割という意味から）が胚の前後の端の表層（細胞膜のすぐ下の細胞質層）に局在するようになる。下図は，PAR-2（後端の表層に局在）とPAR-3（前端の表層に局在），2つのタンパクの分布を示している。これらのタンパクの局在化が完了すると，接合体は前部，後部の細胞をもつ2細胞胚をつくるために分裂する。



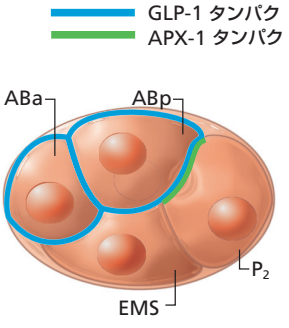
a これらの発見は，なぜ線虫の初期胚の発生では調節決定ではなく，モザイク決定を示すのかという説明をどのように支持するか？

b *par-2*遺伝子，もしくは*par-3*遺伝子の変異は，初期胚で発生を止める。母系効果遺伝子，もしくは接合体の遺伝子を探すスクリーニングのどちらで，これらの遺伝子の変異が見つかると思われるか？

c *par-2*の機能喪失変異のホモ接合体で，雌雄同体の母親によって産み出される接合体では，PAR-3タンパクは表層全体に一様に分布する。また，*par-3*変異の母親由来の接合体中のPAR-2タンパクの分布も同様である。この結果から，線虫の初期の極性の確立について何がいえるか？

問23

2回の分裂後，線虫の胚はABa，ABp，P_2，EMSと呼ばれる4細胞になる（下図参照）。ABaとABp細胞は最初同等に発達するが，図に示したようにGLP-1とAPX-1と呼ばれる2つのタンパクがかかわる，ABpとP_2との相互作用の結果，異なっていく。GLP-1とAPX-1の両方とも膜結合性で，細胞の外側に位置するドメインをもつ。GLP-1は，ABaとABpの表面全体で発現するのに対して，APX-1は，図に示すようにABpとP_2の膜が接合している部分でのみ発現している。



a *glp-1* mRNAは4つのすべての細胞で発現しているが，GLP-1タンパクはABaとABpでのみ発現する。問22の答えを踏まえて，この結果を説明しなさい。

b この図の情報をもとに，P_2細胞の膜の一領域でのみAPX-1が局在することを説明する仮説を提案しなさい。

c ABpの運命に対するこれらのタンパクの影響が情報伝達経路によると仮定すると，GLP-1とAPX-1の2つのタンパクのうち，どちらがリガンドで，どちらがリガンドの受容体か？

d ABp細胞の運命に対する次に示すものの影響を説明しなさい。

（ⅰ）P_2細胞のレーザー除去，（ⅱ）*apx-1*遺伝子のナル変異，（ⅲ）*glp-1*遺伝子のナル変異，（ⅳ）リガンドと受容体の結合によって始まる情報伝達経路内のタンパクをコードする遺伝子のナル変異。

ただし，ここでは，ⅱ～ⅳの変異はABp細胞の運命にのみ影響し，他の線虫の初期発生の工程には影響しないものとする。