

令和 8 年度

京都工芸繊維大学大学院

工芸科学研究科 博士前期課程（修士課程）

応用生物学専攻

入学試験問題（一般入試 第 I 期）

専門科目

注意事項

1. 監督者の指示があるまで、この冊子を開いてはいけません。
2. 試験時間は 13 時 00 分から 14 時 30 分までの 90 分です。
3. この冊子の問題は、8 ページからなっています。6 問のうち 4 問を選んで解答しなさい。
4. 解答用紙は 4 枚あります。1 問題につき 1 枚の解答用紙を使用し、答案用紙の科目欄に解答する問題番号を必ず記入しなさい。
5. すべての答案用紙に、志望専攻名と受験番号を必ず記入しなさい。
6. この問題冊子は持ち帰りなさい。

【問題 1】 以下の問いに答えなさい。

問 1. 次の性質をもつアミノ酸の名称を、タンパク質を構成するものの中からそれぞれ後ろの括弧内の種類ずつ答えなさい。

- (a) 光学異性体をもたないアミノ酸 (1 種類)
- (b) 酸性アミノ酸 (2 種類)
- (c) 硫黄原子を含むアミノ酸 (2 種類)
- (d) 塩基性アミノ酸 (2 種類)
- (e) 芳香族アミノ酸 (2 種類)
- (f) タンパク質中で糖鎖修飾を受けるアミノ酸 (2 種類)

問 2. タンパク質の階層構造について説明しなさい。

問 3. フォールディング病について 2 例の名称を答え、それぞれについて原因タンパク質をあげて説明しなさい。

問 4. ゲルろ過クロマトグラフィーを用いた場合、ヒト血清アルブミンとニワトリ卵白リゾチームではどちらが先に溶出するか答えなさい。また、その理由を 150 文字程度で答えなさい。ただし、ヒト血清アルブミンとニワトリ卵白リゾチームの分子質量は、それぞれ 66.5 kDa と 14.3 kDa であるものとする。

問 5. 細胞小器官や巨大分子を微小管に沿って輸送するモータータンパク質には、微小管のマイナス端（細胞の中心方向）に向かって移動する（A）ファミリーと微小管のプラス端（細胞の外側方向）に向かって移動する（B）ファミリーがある。

（A）、（B）にあてはまるタンパク質名を答えなさい。

【問題 2】 次の文章を読み、以下の問に答えなさい。

植物はさまざまな環境の影響を受け、適応しながら生きている。そのため、周辺の環境を認識するしくみを備えている。光は、植物にとって光合成を行うためのエネルギー源であるだけでなく、外界の光条件を認識するためにも利用されている。植物は、光を光受容体で吸収し、その信号を伝達することで様々な環境適応を行っている。光受容体には（ア）や（イ）を吸収する^(a) フィトクロムと青色光を吸収する（ウ）と（エ）がある。フィトクロムは種子の発芽や（オ）形成に関与し、（ウ）は（カ）や気孔を開くことに関与し、（エ）は茎の伸長成長の抑制に関与している。

植物は乾燥した環境になると（キ）という植物ホルモンが増加し、カリウムイオンが細胞外に流出して、細胞内の浸透圧が低下し、^(b) 気孔を閉じる。

茎と葉の成長には植物ホルモンのジベレリンが促進的に働いており、ジベレリンは^(c) 茎が細長く伸長する際に必要である。一方、エチレンは抑制的に働き、植物が風に吹かれたり、機械的な接触が度々起こると合成され、^(d) 伸長成長を抑制し茎を太くする。

問 1. （ア）～（キ）に入る適切な語句を書きなさい。

問 2. 下線部（a）の機能を欠損させた突然変異体の種子を明所に置くと、芽生えてくる植物体はどのようなになるか説明しなさい。

問 3. 下線部（b）について、CAM 植物の場合は一般的な植物の気孔開閉と異なる。CAM 植物の気孔の開閉について 30 文字以内で説明しなさい。また、このような特徴をもつ植物を以下の中からすべて選び、書きなさい。

アサガオ イネ エンドウ サトウキビ ダイズ
トウモロコシ パイナップル ベンケイソウ

問 4. 下線部（c）と（d）では細胞中のセルロース繊維の形成方向に違いが見られる。どのような違いか説明しなさい。

【問題3】 以下の問いに答えなさい。

問1. 解糖系についての説明として正しいものを1つ選び、記号で答えなさい。

- ア. 解糖系は酸素欠乏時のみに働く。
- イ. 解糖系は可逆的な反応系である。
- ウ. ミトコンドリアを持たない原核生物には解糖系が存在しない。
- エ. 解糖系は赤血球の唯一のエネルギー供給代謝系である。
- オ. インスリンは解糖系を抑制し、血糖値を下げる。

問2. 解糖系でATPを消費する反応を触媒する酵素を2つ答えなさい。

問3. 解糖系でATPを産生する反応を触媒する酵素を2つ答えなさい。

問4. 嫌気的条件下で微生物によって行われ、解糖系に NAD^+ を再供給する発酵の名称を2つ答えなさい。また、その発酵によって生じる NAD^+ 以外の最終産物名を記しなさい。

問5. 脂肪酸からアセチルCoAを取り出す代謝経路の名称を答えなさい。また、代謝が行われるオルガネラの名称を2つ答えなさい。

問6. ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体の働きによって、解糖系の代謝産物であるピルビン酸からもアセチルCoAが生じる。その際、アセチルCoAと NADH とともに生じる物質名を答えなさい。

問7. 脂肪酸やピルビン酸から生じたアセチルCoAは、TCA回路で代謝される。TCA回路にはイソクエン酸デヒドロゲナーゼ、2-オキシグルタル酸デヒドロゲナーゼ、コハク酸デヒドロゲナーゼ、リンゴ酸デヒドロゲナーゼが存在し、TCA回路が1回転すると1分子の FADH_2 が生じる。1分子のアセチルCoAがTCA回路で代謝されると、 NADH が何分子産生されるか答えなさい。

【問題 4】 次の文章を読み、以下の問いに答えなさい。

消化酵素は、食べ物に含まれるデンプン、タンパク質、脂肪などの栄養素を、体内で吸収できる小さな分子にするために分解する。これらには、デンプンの主成分を分解するアミラーゼ、タンパク質を分解するプロテアーゼ、脂肪を分解するリパーゼ（トリアシルグリセリドリパーゼ）、核酸を分解するヌクレアーゼなどがある。

問 1. 文章中の（ア）、（イ）内に入る適切な器官名を答えなさい。

ヒトでは、アミラーゼ、プロテアーゼの一つであるトリプシン、リパーゼは、（ア）で合成される酵素である。トリプシンの場合、不活性型のトリプシノーゲンとして分泌されたものが（イ）に達すると活性化される。

問 2. 消化酵素のような分泌タンパク質が分泌されるまでの仕組みと経路を説明しなさい。

問 3. デンプンとグリコーゲンの貯蔵部位、構造、水への溶解性、機能について類似点と相違点を述べなさい。

問 4. トリプシノーゲンは、エンテロキナーゼ（エンテロペプチダーゼ）または自己分解により同一のところが切断されることで活性型のトリプシンとなる。切断部位は、18-21 番目のうち何番目と何番目のアミノ酸の間に存在するどのような化学結合なのか、その名称と特徴について構造式を用いて説明しなさい。ただし、トリプシノーゲンは、N 末端から数えて 18、19 番目はアスパラギン、20 番目はリジン、21 番目はイソロイシンである。

問 5. トリグリセリドの構造式を記載して、リパーゼが作用することで切断される化学結合の場所と名前、そして結果、生成してくる物質の名前を答えなさい。

問 6. DNA にヌクレアーゼが作用したときに、切断される結合の名前を答えなさい。

問 7. 阻害剤による酵素活性阻害；①競争阻害、②非競合阻害、③不競合阻害について、阻害剤の酵素への結合や V 、 K_m への影響に基づいて説明しなさい。

【問題5】 次の文章①と②を読み、以下の問いに答えなさい。

- ① 脳は複数の種類の細胞からなる器官である。一般に、興奮により活動電位を生じ、脳における主要な情報処理を担う細胞が（ア）である。一方、（ア）の働きを様々な面で助ける細胞を総称して（イ）と呼ぶ。さらに（イ）は、脳の物理的な支持と脳内環境の維持に関わる（ウ）、脳における免疫を担当する（エ）、髄鞘形成に関与する（オ）という3種類の細胞に分類される。

（ア）は様々な特徴に基づいて、より細かなグループに分類することができる。例えば放出する神経伝達物質に注目することで、興奮性の細胞と抑制性の細胞に分けられる。興奮性の神経伝達物質としてよく知られるものに（カ）があり、抑制性の神経伝達物質としてよく知られるものに（キ）がある。（カ）は^(a)シナプス可塑性や細胞の興奮毒性に深く関わる神経伝達物質である。（キ）の受容体を標的とする薬物は、不安障害、睡眠障害、てんかんなどの治療に用いられる。

これらの細胞は、それぞれが特有の^(b)マーカータンパク質を発現しており、脳切片の^(c)免疫蛍光染色によって顕微鏡で観察することができる。

- 問1. （ア）～（キ）に当てはまる最も適切な語句を答えなさい。
- 問2. 下線部(a)はシナプスのどのような性質か、その生理的な意義やメカニズムを含めて簡潔に説明しなさい。
- 問3. 下線部(b)について、（ウ）が特異的に発現するマーカータンパク質として最も適切なものを以下から選びなさい。

S100B Iba1 MAP2 parvalbumin

- 問4. 下線部(c)の実験手法について、特に間接法と呼ばれる方法について簡潔に説明しなさい。

- ② 大学院生の工織花子さんは、ある分子 X がマウスの脳において脳部位 A と脳部位 B に強く発現していることを見出した。脳部位 A は記憶に関わることが知られていることから、花子さんは (d) 分子 X の機能を脳部位 A で特異的に抑制したマウスで (e) 学習課題の成績を評価する実験を考案し、指導教員に提案した。

問5. 下線部 (d) について、ある分子の機能を部位特異的に阻害または喪失させる一般的な手法を 2 種類挙げてそれぞれ簡潔に説明しなさい。

問6. 下線部 (e) について、花子さんが分子 X の機能を脳部位 A、脳部位 B および全脳で阻害した条件下で学習課題（モリス水迷路試験）と自発活動量の測定（オープンフィールド試験）を行ったところ、下の表のような結果が得られた。この結果の解釈として適切でないものをア～オから二つ選びなさい。

X を阻害した領域	学習課題の成績	自発活動量
脳部位 A	低下した	変化なし
脳部位 B	変化なし	変化なし
全脳	低下した	変化なし

- ア. 脳部位 A に発現する分子 X は、学習に重要な働きをもつと考えられる。
- イ. 脳部位 B に発現する分子 X は、学習に関与しないと考えられる。
- ウ. 脳部位 B に発現する分子 X は、自発活動量の調節に関与していると考えられる。
- エ. 分子 X を全脳で阻害した実験結果だけからでは、脳部位 A の分子 X と脳部位 B の分子 X のどちらが学習に決定的な役割をもっているかは結論できない。
- オ. 脳部位 A に発現する分子 X を阻害したときに学習課題の成績が低下したのは、自発活動量の変化の影響を受けたからだと考えられる。

【問題6】 次の文章を読み、以下の問に答えなさい。

(1)モデル生物は、遺伝子機能の解明や疾患モデルの構築に用いられる、分子生物学研究の基本的なツールである。あるモデル動物で、(2)表現型異常を示す潜性(劣性)変異体が得られたとする。この変異体の原因遺伝子を分子生物学的手法によって同定し、その(3)遺伝子の機能を明らかにする研究を行う場合について、以下の設問に答えなさい。

問1. 下線部(1)のモデル生物に求められる性質を2つ挙げ、それぞれ簡潔に説明しなさい。

問2. 下線部(2)について、突然変異体の原因遺伝子を特定するためには、まず野生型と変異体のゲノムDNAやcDNAを比較し、変異が生じている配列領域を特定し、それが含まれる遺伝子を調べる必要がある。以下の問いに答えなさい。

- (a) PCRと制限酵素処理を用いて、変異体と野生型との間に塩基配列の違いがあるかどうかを調べるPCR-RFLP法(CAPS法)について、その原理を簡単に説明しなさい。
- (b) 原因遺伝子の候補が複数ある場合、各候補遺伝子のcDNAを個別にクローニングし、それぞれ変異体に導入して表現型の変化を観察する方法がある。この方法の名称を述べなさい。

問3. 候補遺伝子のゲノム配列を解析したところ、変異体に特異的な点変異が発見された。この点変異が原因であるかを検証するため、CRISPR-Cas9、または相同組換え修復(HDR)を用いた実験を計画したい。

- (a) CRISPR-Cas9システムの構成要素とそれぞれの役割を説明しなさい。
- (b) 相同組換え修復(HDR)を利用して目的の塩基変化をゲノムに導入する場合、ドナーDNAの設計に必要な要素を述べなさい。

問 4. 下線部 (3) について、同定した遺伝子の機能をより詳細に解析するためにはその発現様式や相互作用する分子、関与する分子経路など、生理的な役割を調べる必要がある。そこで、(a) 蛍光タンパク質タグを用いた遺伝子発現パターンの可視化、(b) タンパク質間相互作用の解析のうち 1 つを選び、次のア～ウの 3 点についてそれぞれ説明しなさい。

ア. 実験の目的（何を明らかにしたいのか）

イ. 実験の基本的な原理や方法（どのようにして情報を得るのか）

ウ. 得られた結果からどのような考察が可能か

（ 以 上 ）

解答例

【問題 1】

問 1.

- (a) グリシン
- (b) アスパラギン酸、グルタミン酸
- (c) メチオニン、システイン
- (d) アルギニン、リシン、ヒスチジンのうちから 2 つ
- (e) フェニルアラニン、チロシン、トリプトファンのうちから 2 つ
- (f) アスパラギン、セリン、スレオニンのうちから 2 つ

問 2.

タンパク質の階層構造は、一次構造、二次構造、三次構造、四次構造の 4 段階に分けられる。

一次構造はアミノ酸配列のことで、二次構造は局所的な α ヘリックス構造や β シート構造のことで、三次構造は 2 次構造がさらに折りたたまれタンパク質全体として独特の立体構造こと、四次構造は複数のポリペプチド鎖が集合した構造のこと。

問 3.

アルツハイマー病:

アミロイド β というタンパク質が脳内で凝集し、神経細胞を破壊することで発症する。

タウタンパク質は、神経細胞内で微小管を安定化させる役割を持つタンパク質であるが、アルツハイマー病では異常にリン酸化され、神経細胞内に蓄積し、神経細胞の死を引き起こし、脳の萎縮を促進する。(どちらか 1 つでも答えられたら正解とした)

パーキンソン病:

α -シヌクレインというタンパク質が脳内で凝集し、神経細胞を破壊することで発症する。

伝達性海綿状脳症 (プリオン病) :

プリオンタンパク質が異常型に変化し、脳内に蓄積することで神経細胞の損傷や死を引き起こし、最終的にはプリオン病を発症する。

問 4.

ヒト血清アルブミンが先に溶出する。

ゲルろ過クロマトグラフィーでは、カラム内には多孔質のゲルビーズが充填されている。大きな分子ヒト血清アルブミンはビーズの孔の内部に入ることができず、ビーズの間を素通りするので、早くカラムを通過する。小さな分子ニワトリ卵白リゾチームはビーズの内部にも入り込むため、遅れてカラムを通過するため。

問 5.

(A) ダイニン

(B) キネシン

【問題 2】

問 1. (ア 赤色光)、(イ 遠赤色光)、(ウ フォトトロピン)、(エ クリプトクロム)、(オ 花芽)、(カ 光屈性)、(キ アブシシン酸)

問 2. フィトクロムが機能喪失すると光を受容できなくなり、明所であっても光を感じないため、暗所で芽生えた植物と同じ反応を示し、もやし状態となってしまう。

問 3. CAM 植物の気孔は、昼間閉じて夜間に開く。

パイナップル ベンケイソウ

問 4. 茎が縦に伸長するときは伸長方向と直角（細胞の横方向）にセルロース繊維が形成され、茎が太くなるときは伸長方向（細胞の縦方向）にも繊維が形成されるから。

【問題3】

問1. エ

問2. ヘキソキナーゼ、ホスホフルクトキナーゼ

問3. ホスホグリセリン酸キナーゼ、ピルビン酸キナーゼ

問4. 発酵名 乳酸発酵、産物 乳酸

発酵名 アルコール発酵、産物 エタノール または 二酸化炭素

問5. 代謝経路 β 酸化

オルガネラ名称 ミトコンドリア、ペルオキシソーム

問6. 二酸化炭素

問7. 3分子

【問題 4】

問1. ア：膵臓 イ：十二指腸

問2. 多くの分泌タンパク質にはN末端に20-30アミノ酸残基程度の疎水性に富んだ「シグナルペプチド（分泌シグナル）」と呼ばれる配列が存在する。この配列は、リボソームで翻訳が開始されると真っ先に合成されて小胞体（ER）膜に存在するシグナル認識粒子（SRP）によって認識される。SRPとの結合により翻訳が一時停止したりリボソーム-タンパク質複合体は小胞体膜上のSRP受容体へ誘導される。続いて、翻訳は再開してポリペプチド鎖は輸送チャンネルを通じて小胞体内腔へ挿入されるようになる。小胞体内に入った時点でシグナルペプチド部分はシグナルペプチダーゼによって切断される。小胞体内では、立体構造の形成や糖鎖修飾などの初期修飾を受け、さらに小胞輸送によりゴルジ体へと送られる。ゴルジ体ではさらに糖鎖修飾などの後期修飾を受けた後、分泌小胞に梱包され、最終的に、細胞膜と融合してエキソサイトーシスにより細胞外へ分泌される。

このように、「分泌タンパク質はシグナルペプチドにより小胞体経路へ導入され、小胞体内でシグナルペプチドが外された後 → ゴルジ体 → 分泌小胞 → エキソサイトーシスにより細胞外という経路を経て分泌される」

問3.

① 存在場所

デンプンは主に植物の葉・茎・種子などに蓄えられている。一方、グリコーゲンは主に動物に存在しており、肝臓や筋肉に多く含まれている。

② 構造

デンプンは2種類の構成成分、すなわちアミロース（直鎖型）とアミロペクチン（分岐型）からなる。分岐はグリコーゲンに比べて少ない（約24-30残基ごとに生じる）。一方、グリコーゲンはほぼ全てが分岐構造を持つ高分岐多糖であり、約8-12残基ごとに分岐している。結果、デンプンに比べて緻密な球状構造をとる。

③ 水への溶解性

アミロースが比較的水に難溶であるから、デンプン全体としては部分的にしか溶けない。グリコーゲンは分岐が多いので、水に非常によく溶ける。

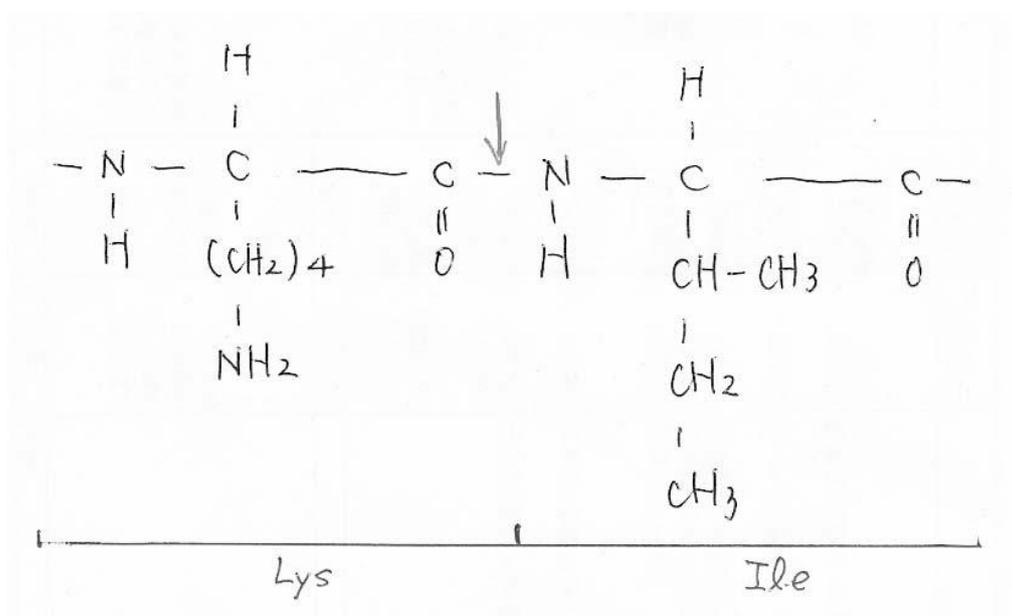
④ 機能

デンプンは植物における長期的なエネルギー貯蔵物質として、グリコー

ゲンは動物における短期的かつ即時利用可能なエネルギー源として働く。
これらの違いは水に対する溶解性と密接に関係している。

問 4.

リジンとイソロイシン間のペプチド結合を切断する。



問 5.

- ① トリグリセリドの構造式（簡略） R_1 , R_2 , R_3 はそれぞれ脂肪酸の炭化水素鎖を表す
- ② 切断される結合の場所と名前
グリセロールと脂肪酸をつなぐエステル結合（ $-\text{COO}-$ ）を加水分解する。
切断される化学結合の名前：エステル結合（ester bond）
位置：グリセロールの各ヒドロキシ基（ $-\text{OH}$ ）と脂肪酸のカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）との間
- ③ 生成する物質
グリセロール 1 分子と脂肪酸 3 分子が生成される。

問 6. ホスホジエステル結合

問 7.

- ① 競合阻害（competitive inhibition）
阻害剤は、基質と同じ部位（活性中心）に結合して ES 複合体形成を阻害する。

結合様式：基質と似た構造の阻害剤が，酵素の基質結合部位（活性部位）に可逆的に結合する。

V への影響：変化なし（一定）

K_m への影響：増加する（基質の見かけの親和性が低下）

② 非競合阻害 (non-competitive inhibition)

阻害剤は，基質と異なる部位に結合するので，ES 複合体形成（親和性）には直接影響しない。結果，EI または ESI 複合体ができるので，有効な E は減少した状態になる。

結合様式：酵素の活性部位以外の場所に阻害剤は結合して，基質との結合を阻害する。

V への影響：減少する

K_m への影響：変化なし

③ 不競合阻害 (uncompetitive inhibition)

ES 複合体は，P を産生するのではなく ESI 複合体を形成するのに消費される。

結果，ES 複合体はできやすくなる。

結合様式：阻害剤は酵素-基質複合体のみに結合する。

V への影響：減少する

K_m への影響：減少する

【問題 5】

問1.

- (ア) ニューロン (神経細胞)
- (イ) グリア細胞
- (ウ) アストロサイト (アストログリア、星状膠細胞)
- (エ) ミクログリア
- (オ) オリゴデンドロサイト
- (カ) グルタミン酸
- (キ) GABA (ガンマアミノ酪酸)

問2.

(解答例) シナプス可塑性とは、シナプスの伝達効率が神経活動に依存して変化する性質であり、学習や記憶の基盤であると考えられている。シナプス可塑性の例である海馬の長期増強は、NMDA 型グルタミン酸受容体を通じたカルシウムイオンの流入、タンパク質キナーゼの活性化や遺伝子発現を介したメカニズムで起こることが知られる。

問3.

S100B

問4.

(解答例) 免疫蛍光染色は、組織切片における抗原タンパク質の局在を蛍光標識した抗体を用いて検出する手法である。間接法では最初に抗原タンパク質に特異的な一次抗体を結合させる。次にその抗原に結合した一次抗体に対して、蛍光色素で標識した二次抗体を結合させる。このようにして蛍光標識された抗原タンパク質の存在を、蛍光顕微鏡で観察する。

問5.

(解答例)

- ・分子 X の阻害薬を脳部位 A に微量注入する。
- ・脳部位 A 特異的プロモーター下に Cre 組み換え酵素を発現するマウスを用いて部位特異的な遺伝子ノックアウトマウスを作製する。
- ・分子 X の遺伝子に対する shRNA を発現するウイルスベクターを脳部位 A に微量注入して部位特異的遺伝子ノックダウンを行う。

など

問6.

ウ、オ

【問題 6】

問 1.

- 先行研究の知見や変異株リソースが蓄積・共有されている。多くの研究成果や変異体コレクションが既に存在するため、新たに得られた変異体や解析結果を他の研究と比較しやすく、研究の進展が速い。
- ゲノム情報が解明されており、遺伝子解析をしやすい。全ゲノム配列が公開されているため、候補遺伝子の同定や分子生物学的解析が容易に行える。
- 遺伝子改変（変異導入やトランスジェニック）が容易である。遺伝子ノックアウトや外来遺伝子導入の技術が確立しているため、機能解析実験を効率的に実施できる。
- 短期間で世代交代し多数の子孫を得られる。世代時間が短く、実験集団を速やかに拡大できるため、遺伝子変異の効果を迅速に検証できる。
- 倫理的にヒトでは実施困難な実験を代替できる。ヒトでは倫理的に不可能な遺伝子改変や組織操作をモデル生物で行うことで、病態や遺伝子機能の解明が可能になる。
- 一度に多数の個体を扱う大規模実験が可能である。小型で飼育が容易なため、多数のサンプルを同時に扱う統計的に有意な実験ができる。
- 実験材料の飼育・維持が容易でコストが低い。特殊な設備や高額な維持費を必要とせず、限られた研究資源で継続的に実験ができる。

など

問 2.

- (a) 対象となる遺伝子領域を PCR 増幅し、得られた DNA 断片を特定の制限酵素で消化して野生型と変異体のパターンを比較する。変異によって特定の制限酵素認識配列が消失または新たに出現していれば、消化後の断片長に差が生じるため、電気泳動で得られるバンドパターンの違いから両者の塩基配列差異を検出できる。
- (b) 遺伝子補完実験、機能相補試験、機能的相補アッセイ、レスキュー実験、トランスジェニックレスキュー、ノックアウト・レスキューなど。

問 3.

- (a) CRISPR-Cas9 システムは Cas9 タンパク質とガイド RNA (gRNA) から構成される。Cas9 は部位特異的に DNA の二本鎖を切断する酵素であり、gRNA は標的とする塩基配列に相補的な約 20 塩基のガイド配列を含み、

Cas9 に結合して特定の位置に誘導する。さらに、Cas9 が標的 DNA を切断するためには、切断部位の直近に PAM と呼ばれる特定の短い配列が存在する必要がある。

- (b) HDR (相同組換え修復) によってゲノムに変異を導入するには、まず標的座位の上下流にドナーと相同な配列、すなわちホモロジーアーム (相同配列) を数百塩基対ずつ含め、組換えによって正確に目的の変異がゲノムに挿入されるようにする。また導入したい点変異 (置換したい塩基変化) 自体をドナー DNA 中に組み込む。さらに HDR 完了後に Cas9 が再び同じ部位を切断しないよう、ドナー配列内の gRNA 標的配列または PAM 配列に数塩基の置換 (アミノ酸配列を変化させないサイレント変異) を加えておき、編集後は Cas9 がその座を認識できないよう工夫する。

問 4.

(a) 蛍光タンパク質タグを用いた遺伝子発現パターンの可視化

目的: 対象遺伝子がどの組織・細胞で、いつ発現しているかを明らかにする。

原理・方法: 対象遺伝子に GFP (緑色蛍光タンパク質) などの蛍光タグを融合し、生物個体に導入して蛍光顕微鏡で観察する。発現している細胞・組織では蛍光シグナルが検出される。

考察: 観察された発現部位・時期の情報から、その遺伝子がどの細胞型や発生段階で機能するかを推測できる。表現型異常との対応関係を調べれば、遺伝子の生理機能解明につながる。

(b) タンパク質間相互作用の解析

目的: 対象タンパク質が相互作用するパートナー分子を同定し、そのタンパク質が属する機能的ネットワークを解明する。

原理・方法: 相互作用分子を検出するため、免疫沈降法 (Co-IP) による共沈タンパク質の同定や、Yeast two-hybrid 法による相互作用のスクリーニングなどを用いる。

考察: 結合パートナーが分かれば、対象タンパク質が関与する細胞内シグナル経路や複合体の存在を推測でき、その機能的役割の理解が深まる。