

101-117

問題文

ヒト細胞における既知遺伝子の発現をPCR(polymerase chain reaction)法により検出するために以下の実験を行った。実験方法と考察に関する記述のうち、正しいのはどれか。2つ選べ。

【実験】 ヒト細胞から抽出したRNAを用いて、逆転写反応により相補的DNA(cDNA)を合成した。このcDNAを鋳型として、既知遺伝子の部分的塩基配列を増幅する特異的なセンスプライマー及びアンチセンスプライマーを用いて、定法に従い24、26、29及び33サイクルでのPCR法を行った。

得られた増幅DNA断片をDNA検出試薬を含むアガロースゲル電気泳動法にて分離し、図のような結果(レーン1～4)を得た。なお、レーン番号の順序は、サイクル数の順序とは一致しない。また、各サイクルでのDNA増幅率はほぼ100%であり、上記サイクル数の間では、DNAは指数関数的に増幅された。

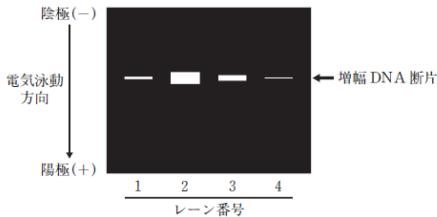


図 アガロースゲル電気泳動法による DNA 断片の分離

1. PCRとは、DNAの熱変性→プライマーのアニーリング→DNA鎖の合成・伸長からなる3段階反応を同一の温度下において繰り返すことで、目的DNAを増幅する反応である。
2. 本実験で行った逆転写反応では、mRNAの5'末端に相補的な配列をもつプライマーを用いた。
3. レーン1～4のDNA断片のうち、レーン1は26サイクルのDNA断片と考えられる。
4. 図の結果より、増幅されたDNA断片は正の電荷を帯びていると考察できる。
5. 図中のレーン2とレーン3では、両者のDNA量は理論上約16倍異なると考察される。

解答

3, 5

解説

選択肢 1 ですが

PCR 実験を思い出すとよいと思います。95→55→72 °C と温度が変わって行って、それぞれの温度で「一本鎖になる」「プライマーくっついて」「複製して」という役割があります。「同一の温度下で」という部分が誤りです。よって、選択肢 1 は誤りです。

選択肢 2 ですが

DNA 合成は、5' → 3' 方向にしかできません。

んで、核酸が 2 本鎖の時は

5' — 3'
3' — 5' という位置関係です。

鋳型である RNA が

5' — 3' として存在するなら、3' 末端側にプライマーをつけて
5' — 3'
3' — 5'

とすると、5' → 3' 方向というのが左方向となるのでうまく DNA 合成が進行します。「5' 末端」に相補的な配列ではないと考えられます。よって、選択肢 2 は誤りです。

選択肢 3 は、正しい選択肢です。

明るさ、太さに注目することで

レーン 4 → 24 サイクル

レーン 1 → 26 サイクル

レーン 3 → 29 サイクル

レーン 2 → 33 サイクル と判断できます。

選択肢 4 ですが

泳動方向が、－から＋なので「DNAは、＋に引かれていった」→「DNA は、負電荷を帯びている」と判断できます。よって、選択肢 4 は誤りです。

選択肢 5 は、正しい選択肢です。

レーン 2 と 3 は、4 サイクル違うので、 $2^4 = 16$ 倍増幅していると考えられます。

以上より、正解は 3,5 です。