

102-117

問題文

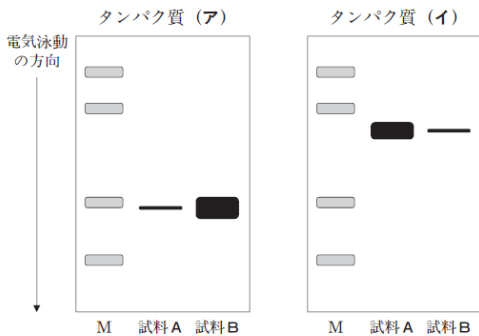
マウスのある細胞において、タンパク質(ア)及び(イ)の産生は転写因子Xにより調節されている。両タンパク質の産生に対するその転写因子の機能を明らかにするため、以下のsiRNA(低分子干渉RNA)導入実験を行った。

実験方法、原理と考察に関する記述のうち、適切なものはどれか。2つ選べ。

【実験】 転写因子Xに対するsiRNAを導入しない細胞A及び導入した細胞Bを24時間培養した。その後、細胞を破壊し、全タンパク質を回収して、それぞれ試料A及びBとした。

同一タンパク質量の試料A及びBを用いてSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、分離されたゲル中のタンパク質をニトロセルロース膜に転写した。次に、そのニトロセルロース膜においてタンパク質(ア)及び(イ)に対する特異的抗体を用いた抗原抗体反応を行った。その結果、図のようにそれぞれのタンパク質に特異的なバンド(黒色)を検出した。

なお、実験に用いたsiRNAは特異的に転写因子XのmRNAをノックダウンすること、そのノックダウン効果は培養24時間の時点で最大となること、さらにタンパク質(ア)及び(イ)のニトロセルロース膜への転写効率に差がないことを確認している。



M：あらかじめ色素にて標識した分子量の異なる既知タンパク質を電気泳動時の分子マーカーとして泳動した。

1. 転写因子Xの遺伝子が存在する染色体が、導入されたsiRNAにより破壊される。
2. 図は、サザンブロット法を用いて得られた結果である。
3. 転写因子Xは、タンパク質(ア)をコードする遺伝子の転写を抑制的に調節していると考察される。
4. タンパク質(イ)の産生は、転写因子Xにより抑制的に調節されると考察される。
5. 転写因子XのsiRNAによるノックダウン効果は、細胞Bをさらに培養することにより減弱すると予想される。

解答

3, 5

解説

転写因子とは、転写（DNA→RNA）を調節するスイッチ的なタンパク質です。＊調節が、促進か抑制かはそれぞれ異なる。

また、siRNA とは、21～23塩基程度の低分子二本鎖RNAです。mRNA を特異的に破壊します。

転写因子もタンパク質なので、DNA→mRNA→タンパク質 という流れで作られます。siRNA 導入により、この転写因子を翻訳するための mRNA が破壊されるため転写因子（タンパク質）が作られなくなる、ということです。

選択肢 1 ですが

染色体が破壊されるわけではありません。あくまでも翻訳された mRNA が破壊されるだけです。よって、選択肢 1 は誤りです。

選択肢 2 ですが

サザンブロットとは、DNAを用いた、DNAの検出法です。本問では、タンパク質を用いてタンパク質を検出している所以これはウェスタンブロットです。

選択肢 3 は、正しい選択肢です。

選択肢 4 ですが

この選択肢が正しいとすれば、試料Bの方が抑制がなくなるので、タンパク質（イ）が多く翻訳されてバンドが太く出るはずですが。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。

ノックダウン効果が培養 24 時間の時点で最大になる、と問題文にあるからです。

以上より、正解は 3,5 です。