

Q.

Excel生物 p121 119 (2)

解答を読んでもいまいち理解できません。選択肢3が答えなのは、図2の上記のDNA配列と同じなので、解答として選んだのはわかりました。なぜ7が選択肢として解答になっているのかわからないです。

A.

まず、実験IIのテーマであるPCR法が、P88の下部に図解してあるような方法でDNAを複製する操作であることを念頭に置いてください。

では問題に戻りましょう。図2で与えられているDNA配列に注目してください。このDNA配列というの、解説P65の「エクセル」に書いてあるように「塩基配列は5'側から3'側に向かって並んでいるように表記するのがルールとなっていますので、それに則って描かれていると考えてよいです。よって、以下のような状態を表しているということです。

5' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 3' ··· 図2の

これはDNAの2本鎖のうちの片方だけしか書かれていないので、もう片方がどうなっているかというと、塩基の相補性を元に考えると、次のようになっていることがわかります。もう片方の方は、3'→5'の向きになることに注意してください。

5' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 3'  
3' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 5'

これが、Excel化学P88のPCR法の図解の左上（「增幅させたい（クローニングしたい）DNA」と書かれたやつ）に対応します。では、そのままP88の図を見て話を進めていくことにしましょう。DNAは続いて、「①95°Cで加熱」することで「塩基同士の弱い結合が切れて1本鎖のDNA」になります。（図解と対応させるため、色もつけておきますね）

5' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 3'

3' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 5'

次に、「②プライマーを加え60°Cで冷却」すると、プライマーが結合します。ここで大事な注意点があります。それは、解説P64にあるように、DNAポリメラーゼによる複製の方向は、5'側から3'側に向かって進行するということです。大事なのは、プライマーにとって5'側から3'側に向かって進行するということです。よって、以下のようない位置にプライマーは付くはずです。

5' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 3'  
          ←----- 3' プライマー 5'

5' プライマー 3' ----->

3' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 5'

Excel化学P88の図解に引きずられて、次のように考えてしまわないように注意してください。

5' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 3'

3' プライマー 5'

5' プライマー 3'

3' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 5'

これでは、以下のようにプライマーは3'側から5'側に複製することになってしまうからです（そんなことはありません）。

5' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 3'

3' プライマー 5' ----->

←----- 5' プライマー 3'

3' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 5'

ということで、結局以下のようにプライマーが付着するわけですが（それをプライマー①、プライマー②としましょう）、

5' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 3'

←----- 3' プライマー① 5'

5' プライマー② 3' ----->

3' - ATG ACG GAA TAT ··· GTG CTC TCC TGA - 5'

プライマーがDNA鎖に対して塩基が相補的に結合することを踏まえると、

プライマー①は、 3' ··· CAC GAG AGG ACT - 5'

プライマー②は、 5' - TAC TGC CTT ATA ··· 3'

となります。ここから、**答えは③、⑦**になるのです。

PCR法を本質的に理解できているかを問う良い問題でした。わかりましたでしょうか？