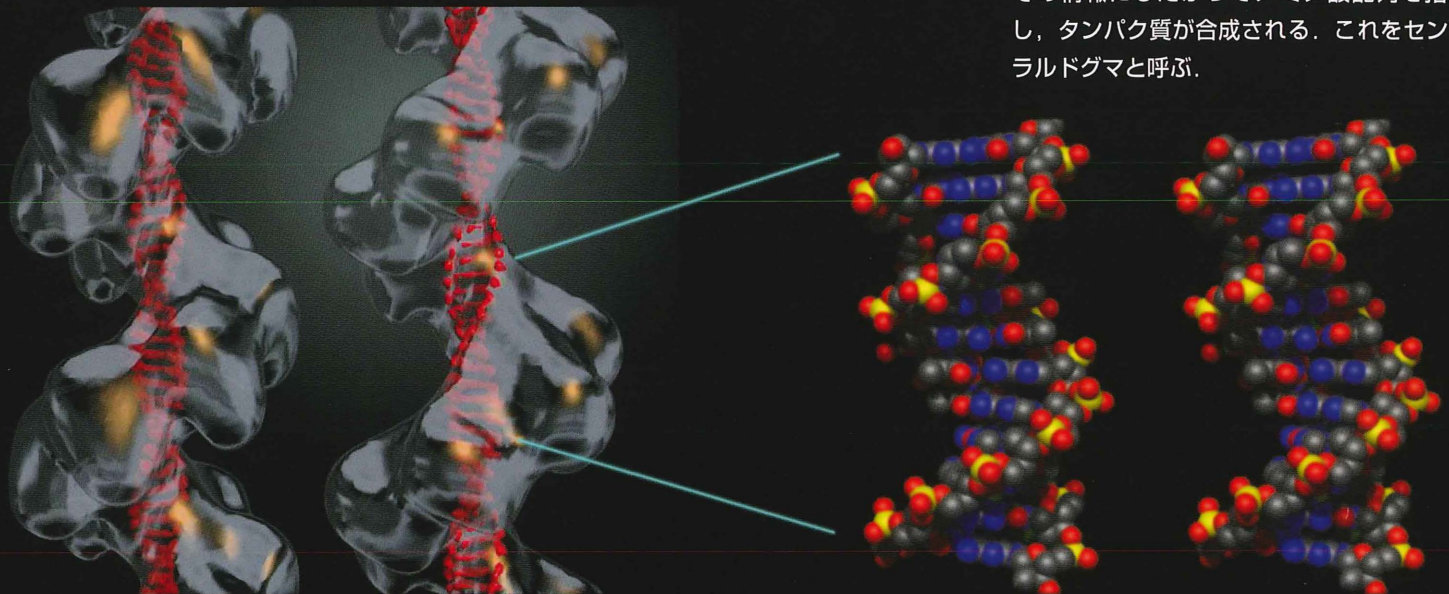


Section 2

遺伝情報の発現と伝達

生命体は、DNA複製・修復を介して種を保存するために自己を複製する。そして、DNAの遺伝情報を発現してRNAとタンパク質を合成し、高度な秩序ある代謝を保持している。遺伝子は、生物の構造や機能を規定するタンパク質を合成するための設計図の役割をもつ。具体的には、遺伝子の本体であるDNAの塩基配列がRNAの塩基配列に読み取られ、その情報にしたがってアミノ酸配列を指定し、タンパク質が合成される。これをセントラルドグマと呼ぶ。



DNAの二重らせん構造

灰色＝炭素 青色＝窒素
赤色＝酸素 黄色＝リン
(水素は省略してある)

遺伝情報の 発現と伝達

遺伝子の構造

1 核酸；遺伝情報の担い手

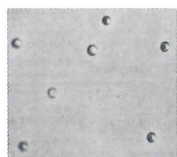
1860年代、細胞核内で塩基性色素で染まるもの、すなわち染色体(chromosome；色chromo-, 体soma)が発見された。さらにDNAが酸性物質として分離され、核酸(nucleic acid)と命名されたのは1869年のことである。

1 DNAが遺伝子であることの証明

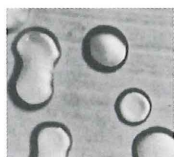
染色体は核酸とタンパク質からなるが、遺伝子の本体がデオキシリボ核酸(DNA；deoxyribonucleic acid)であることを証明したのは、1944年Averyらの実験である。

肺炎球菌の病原性実験(Griffith, 1928)

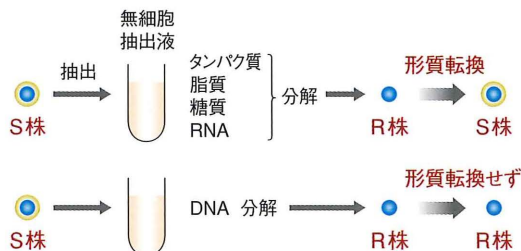
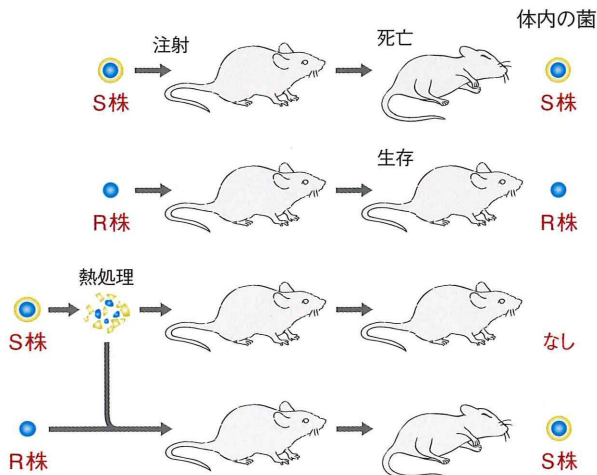
- ① S株を注射したマウスは死亡。
 - ② R株を注射したマウスは生存。
 - ③ 熱処理して不活性化したS株では生存。R株と熱処理S株を混合して注射すると死亡。マウスから生存S株を分離。
- ⇒ R株からS株への形質転換の証明。



小さく粗面コロニーの
R株 (病原性なし)

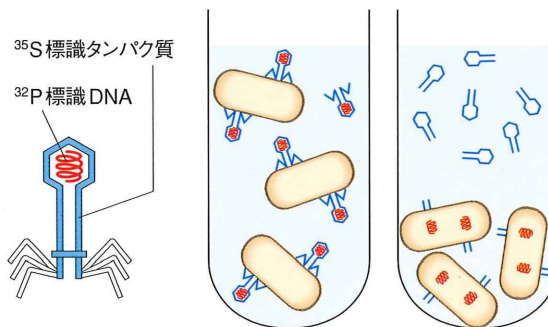


大きく滑面コロニーの
S株 (病原性あり)



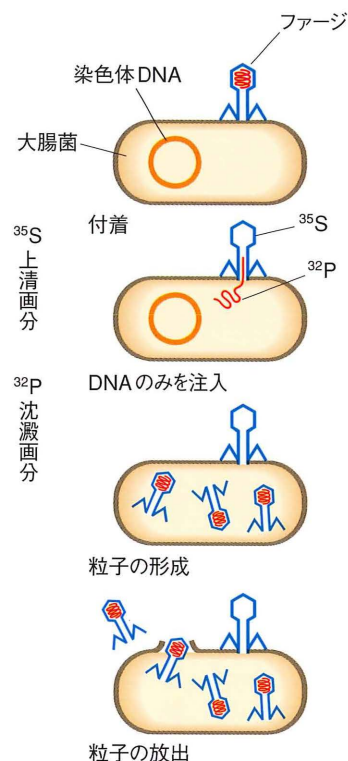
肺炎球菌形質転換の実験(Averyら, 1944)

- ① S株を溶菌し、無細胞抽出液を作製。抽出液からタンパク質、脂質、糖質成分を除去したDNAを含む残留成分は、R株からS株への形質転換能をもつ。
 - ② DNA残留成分はR株からS株への形質転換能をもたない。
- ⇒ DNAが形質転換させる物質であることを証明。



バクテリオファージの感染実験(Hershey & Chase, 1952)

- ① バクテリオファージの外殻タンパク質を³⁵S、DNAを³²Pで放射性標識。
 - ② 標識したファージを細菌に感染させる。
 - ③ ³²P-DNAのみが菌体に移行し、³⁵S-タンパク質は移行しない。
- ⇒ ファージの複製にDNAが遺伝子として関与することの証明。

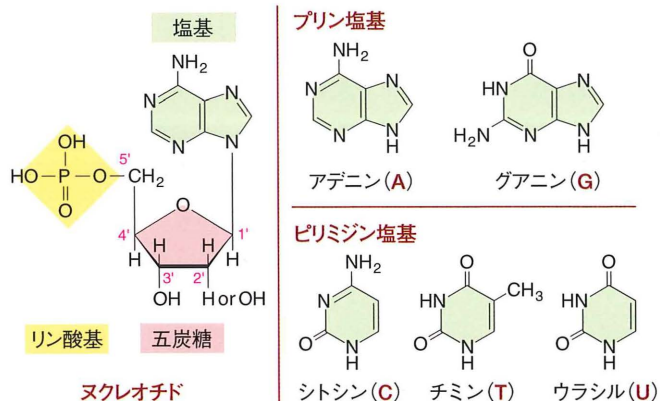


2 核酸の基本単位

五炭糖・塩基・リン酸の結合物であるヌクレオチド (nucleotide) が、核酸 (DNA, RNA) の基本単位である。DNAは五炭糖がデオキシリボース、RNAはリボースであることから命名された。DNAの構成塩基はA, T, G, Cであり、RNAはTの代わりにUを用いる。

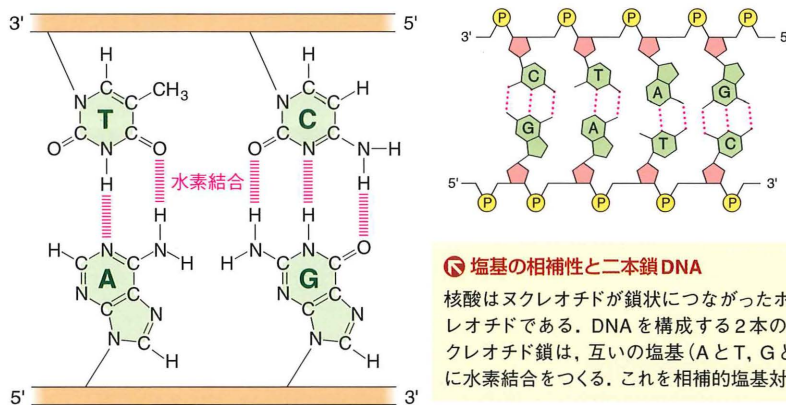
ヌクレオチド

五炭糖の1'位の炭素に塩基、5'位にリン酸が結合したもの。2'位の炭素に水素が結合した五炭糖はデオキシリボースであり、水酸基が結合したものがリボースである。五炭糖と塩基の結合体はヌクレオシド (nucleoside) という。



DNAとRNA

	分子構造	局在	機能
DNA	二本鎖 (ヒト: 30億塩基対)	核, ミトコンドリア, 葉緑体	遺伝子の本体. 遺伝子の複製 タンパク質合成の設計図
mRNA	一本鎖 (1000~1万塩基)	核内で合成, 細胞質へ	DNA情報を転写し, 情報をリボソームへ運搬
tRNA	一本鎖 (70~80塩基)	核内で合成, 細胞質へ	アミノ酸を結合し, リボソーム 上のmRNAへ運搬
rRNA	一本鎖 (7000塩基)	核内で合成, 細胞質へ	リボソームの形成

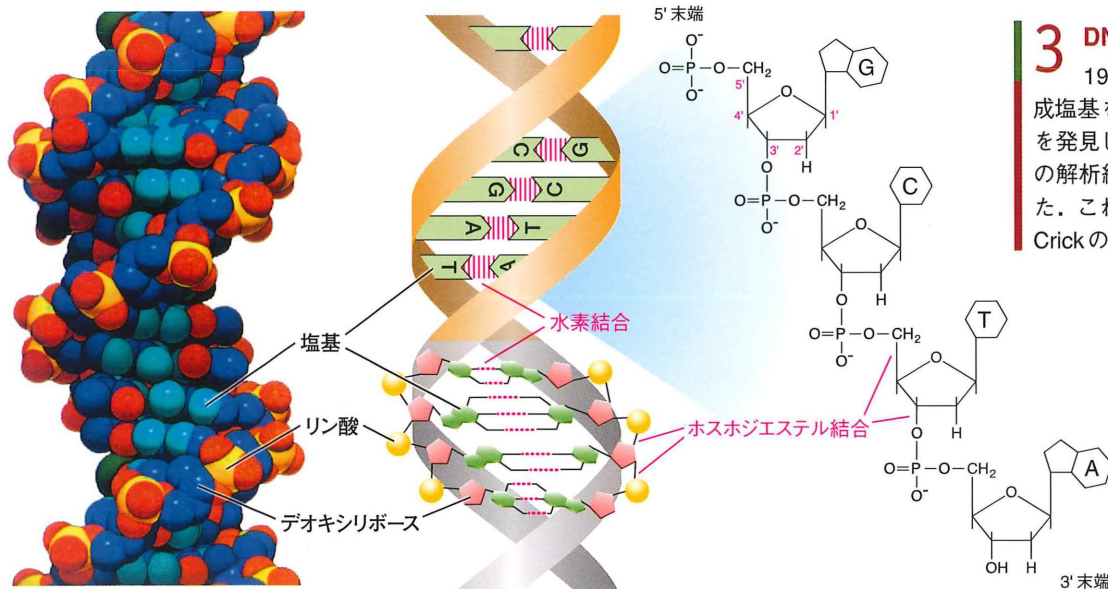


3 DNA二重らせん構造の発見

1947年Chargaffは、多くの生物種でDNAの構成塩基を調べ、AとT, GとCの残基数が等しいことを発見した。また、FranklinとGoslingによるX線回折の解析結果は、DNAがらせん構造であることを示唆した。これらの発見が根拠となり、1953年WatsonとCrickの二重らせんモデルが導かれた。

DNA二重らせん

隣り合う糖残基の3'位と5'位がリン酸で架橋され (ホスホジエステル結合)、ヌクレオチドの鎖を形成する。2本の鎖は相補的塩基対によって、より合わさっている。



遺伝情報の 発現と伝達

遺伝子の構造

2 スクレオソームとクロマチン

真核生物では、DNA分子はタンパク質に強固に結合してクロマチンを作る。この核タンパク質構造は数珠状につながっており、ヌクレオソームと呼ばれる基本単位から構成される。この構造は遺伝子発現の調節に重要な役割を果たしている。

1 原核細胞と真核細胞の比較

原核細胞 (prokaryotic cell) と真核細胞 (eukaryotic cell) とでは細胞の構造、遺伝子の構造および発現様式に違いがみられる。細菌は核を持たず、染色体DNAは細胞質中に環状構造として存在し、mRNAの合成中にもリボソーム上でタンパク質が合成される。これを共役転写翻訳という。すなわち、細菌の遺伝子発現形式は、DNAからmRNAへの転写と、リボソームでのmRNAからタンパク質への翻訳とが同時に共役して行うことが可能である。これに対して、真核細胞は核構造を持ち、染色体DNAはヒストンと結合して核内で転写が行われる。合成されたmRNA前駆体は、スプライシングや修飾を受けて細胞質に移送され、遺伝子情報がリボソーム上で翻訳されてタンパク質が生合成される。

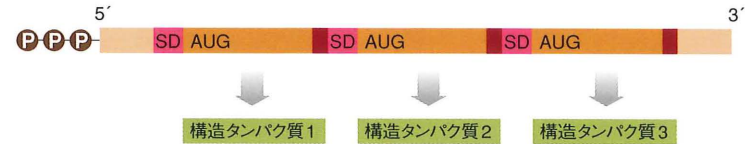
原核細胞と真核細胞の比較

	原核細胞	真核細胞
種類	細菌、シアノバクテリア	原生生物、酵母、植物、動物
細胞の大きさ	1～10 μm	10～100 μm
核膜	なし	あり
DNA	環状DNA、細胞質に存在	線状DNA、核内に存在 ヒストン、イントロン
mRNA		
5'キャップ、poly A 構造	なし	あり
スプライシング	なし	あり
リボソーム	70S	80S
サブユニット (rRNAの種類)	大 50S(23S, 5S) 小 30S(16S)	大 60S(28S, 5.8S, 5S) 小 40S(18S)
ミトコンドリア	なし	あり
細胞骨格	なし	あり
小胞体	なし	あり
転写翻訳	共役する	共役しない
代謝	嫌氣的、好氣的	好氣的

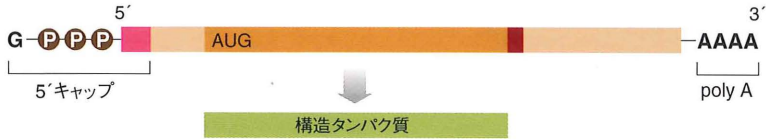
2 ヒトゲノムの構造

大腸菌の全ゲノムは約 4×10^6 塩基対であるが、ヒトゲノムは約 3×10^9 塩基対で23個の染色体におさまられている。それぞれの染色体は50～250×10⁶塩基対のDNAを含んでおり、そのDNA分子の長さは1.7～8.5 cmになる。ヒトの体細胞は二倍体細胞で、染色体は合計23×2=46個ある。したがって、約6×10⁹塩基対のDNAを持ち、これを引き伸ばすと計2 mにも達する。ヒト染色体は直径わずか数μmであるので、圧縮率は約10000分の1ということになる。この効率よいパッキングは、クロマチン(chromatin)というDNAと核タンパク質との複合体を形成することによって実現している。この核タンパク質はヒストン(histone)と非ヒストンタンパク質とに大別される。クロマチンの基本粒子をヌクレオソーム(nucleosome)という。

原核細胞



真核細胞



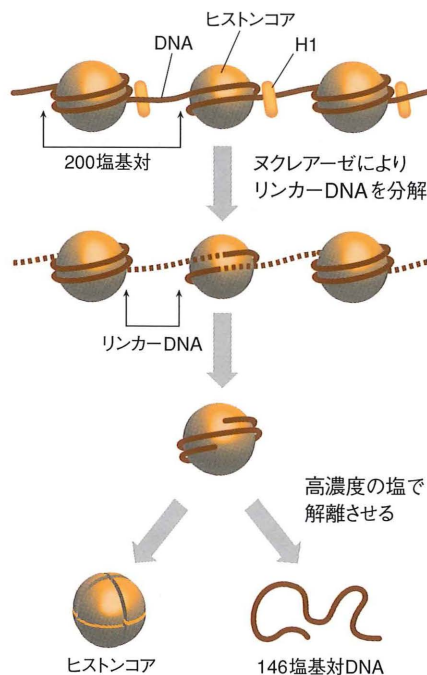
■ リボソーム結合部位 ■ 終止コドン ■ 非コード配列

原核細胞と真核細胞のmRNAの違い

両者とも5'→3'方向に合成されるが、原核細胞には構造遺伝子の前にリボソームRNAの塩基配列に相補的なSD配列と呼ばれる結合部位がある。真核細胞には明確なSD配列は見つかっておらず、5'キャップ構造がリボソームに認識される。また、poly Aは、RNA前駆体が核内でmRNAに成熟する際に付加される。poly Aはoligo dTを用いたmRNAの精製やcDNAの合成のプライマーとして重要である。

3 ヌクレオソームとクロマチン線維

ヒストンタンパク質のうち、H2A、H2B、H3、H4の4種類が2分子ずつ会合した8量体のヌクレオソームコアにDNA鎖が2回巻きつき、各ヌクレオソーム間はリンカーDNA (linker DNA) でつながっている。ヌクレオソーム1単位当たり平均200塩基対 (bp ; base pair) のDNAが繰り返し存在する。ヒストンタンパク質H1はリンカーDNAに結合してヌクレオソーム粒子を折りたたみ、ソレノイド構造をつくる。これがさらにコイル状に巻かれて、直径30 nmのクロマチン線維となる。



4 クロマチン構造

クロマチン線維は、さらにたたみ込まれてループを形成し、このループが2000個以上凝縮して1本の染色体を構成している。有糸分裂中の染色体を染色するとGバンド (A-Tヌクレオチド対が豊富) とRバンド (G-Cヌクレオチド対が豊富) が区別でき、染色体の区別や遺伝子の位置の指標に利用される。

5 活性クロマチンと不活性クロマチン

クロマチン構造で、密に折りたたまれた部分の遺伝子発現活動を停止した状態を不活性クロマチンという。これに対して、遺伝子の転写を行い、タンパク質合成を行っている遺伝子領域を活性クロマチンという。活性クロマチンの特徴として次のようなことが知られている。

- ① 特定のヒストンH1がゆるく結合している (ソレノイド構造を形成しない)
- ② 不活性クロマチンに比べてヒストンが極端にアセチル化されている (ヒストンのアセチル化の増加とRNA合成の増加の相関性が認められている)。
- ③ ヌクレオソームが非ヒストンタンパク質に属する高移動度群 (high mobility group) と呼ばれる染色体タンパク質と結合している。

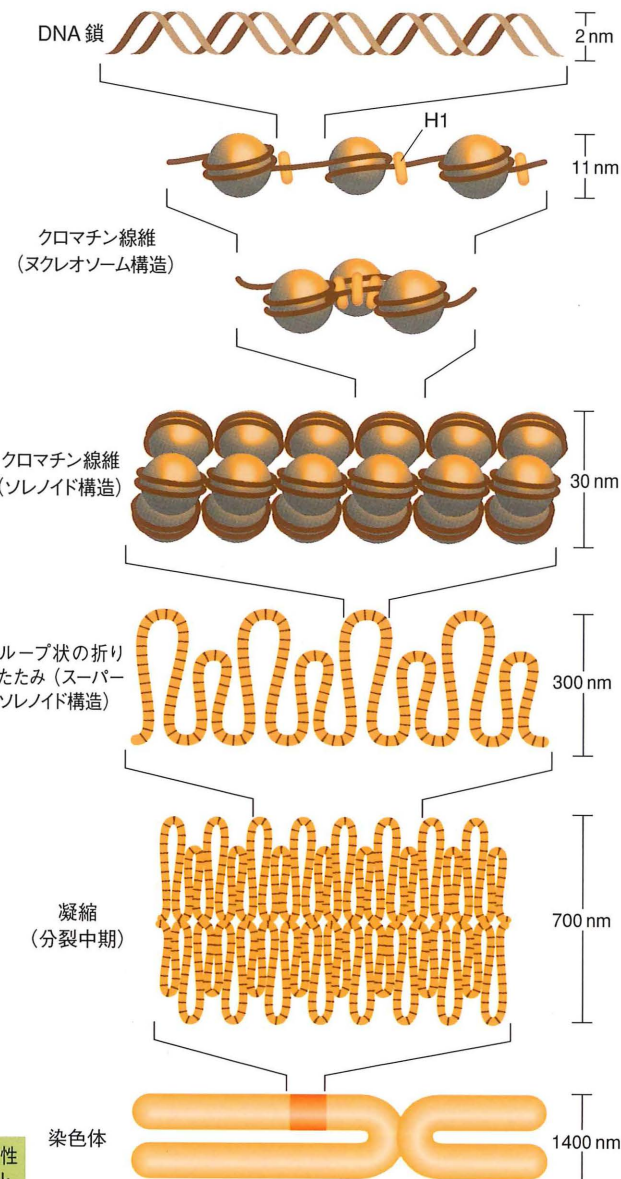
➡ ヒストンの構成アミノ酸

ヒストンは塩基性タンパク質で、右の5種類が存在する。いずれも分子量1万2000～2万程度のリシンやアルギニンに富む塩基性タンパク質である。これら塩基性アミノ酸側鎖の陽荷電がDNAのリン酸基の陰荷電とイオン結合している。

➡ ヌクレオソーム構造

DNAaseで処理するとリンカーDNA部分が消化され、約1.8巻きに相当する146 bp DNA鎖が8量体のヌクレオソームコアに巻きついて残る。

	分子量	塩基性アミノ酸 Lys	塩基性アミノ酸 Arg	酸性アミノ酸	塩基性/酸性 アミノ酸比
H1	23000	29%	1%	5%	5.4
H2A	14000	11%	9%	15%	1.4
H2B	13800	16%	6%	13%	1.7
H3	15300	10%	13%	13%	1.8
H4	11300	11%	10%	10%	2.5



➡ クロマチン構造

この各段階での効率よい圧縮によって、染色体DNAが核内に収納できるようになる。H1ヒストンは、隣接するヌクレオソーム間に位置してヌクレオソームの折りたたみに働く。

遺伝情報の 発現と伝達

遺伝子の構造

3 DNAの複製に必要な構造

真核細胞の染色体DNAを正しく確実に複製し機能を発揮させるには、染色体内に存在する3つの構造が必要で、特異的な塩基配列部分に関与している。原核細胞は有糸分裂せず、染色体DNAは環状構造であることから、DNA複製起点のみで複製が可能である。

1 DNA複製起点 replication origin

複製開始点ともいい、原核細胞、真核細胞ともに約300塩基からなる特異的な塩基配列から構成されている。動物細胞には多数の複製起点が存在する。この領域に複製開始タンパク質が結合してDNA-タンパク質複合体を形成する。この複合体にヘリカーゼが結合してDNAポリメラーゼによって複製が開始する。

2 セントロメア centromere

セントロメアは、有糸分裂する真核細胞のM期の紡錘体に結合して、極への移動に重要な役割を果たす。セントロメアの両端に動原体と呼ばれるタンパク質複合体が形成され、紡錘体を構成する微小管が動原体に結合している。動原体を形成するのに必要なタンパク質は、セントロメアの中に存在する特異塩基配列に結合する。

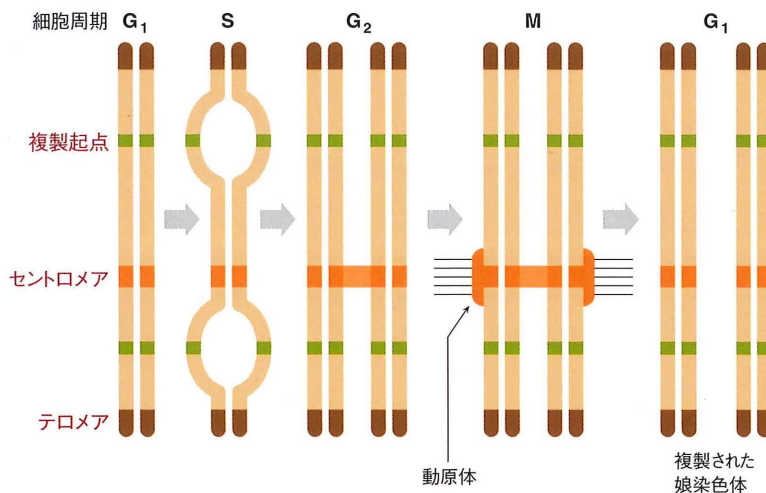
3 テロメア telomere

DNA複製の際、ラギング鎖のDNA合成にはRNAプライマーを合成する鋳型DNAが必要であるが、末端部分に対する鋳型は存在しないので、複製を繰り返すたびに末端部分のテロメア配列が短くなってしまう。これを防ぐためにテロメラーゼtelomeraseと呼ばれる酵素がテロメア配列を延長している。癌細胞のような無限増殖性細胞ではテロメアがよく保持されているが、有限増殖性の正常細胞では老化に伴いテロメラーゼ活性が低下し、テロメア末端が減少することが知られている。(老化の項108ページ参照)

➡ DNA複製起点

原核細胞ではATに富む13塩基対と、9塩基対からなる共通配列からなる。

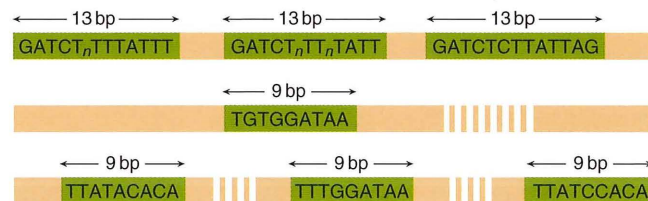
酵母ではATに富む12塩基対が3カ所と、その他数カ所の共通配列が存在する。



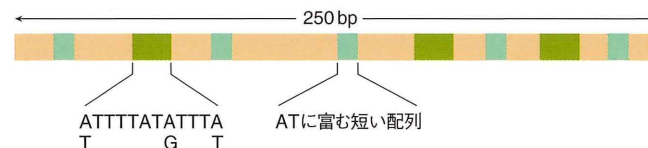
➡ 複製に必要な染色体の構造

真核細胞の染色体には、多数の複製開始点と1つのセントロメアと2つのテロメアが存在する。

原核細胞



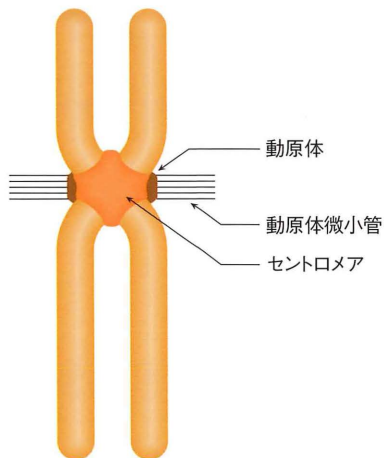
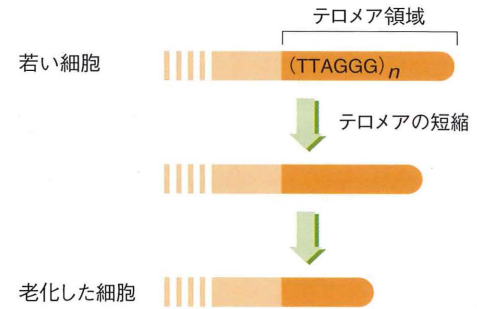
真核細胞 (酵母)



テロメア

➡ 染色体内の DNA 分子の両端に数塩基からなる反復配列が存在する。これをテロメア配列といい、ヒトでは TTAGGG の繰り返し配列で、数 kb 以上ある。テロメア領域は細胞の老化に伴い短くなる。

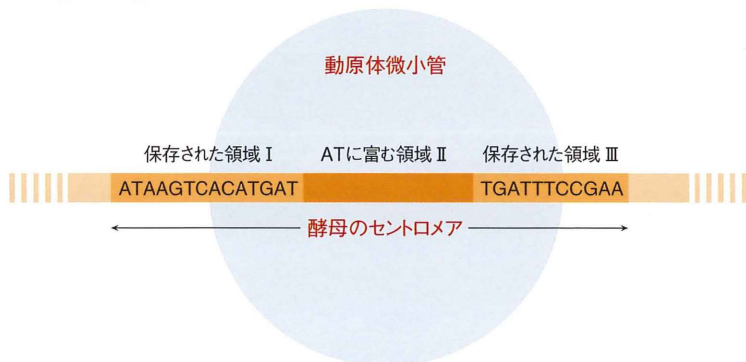
Ⓜ テロメラーゼは逆転写酵素の一種で、TTAGGG の 1.5 回分に相当する相補鎖の鋳型 RNA を内在し、これをプライマーに用いて伸長反応を行う。その伸長部分を鋳型として DNA ポリメラーゼが相補鎖を合成し、テロメア末端の複製が終了する。



セントロメア

Ⓜ セントロメア、動原体、動原体微小管の関係。

Ⓜ 酵母のセントロメア DNA には I, II, III の特異配列領域が存在し、動原体を形成するタンパク質複合体が結合する。この複合体に動原体微小管の末端が結合する。哺乳動物のセントロメア DNA はもっと長く反復配列を持つ。



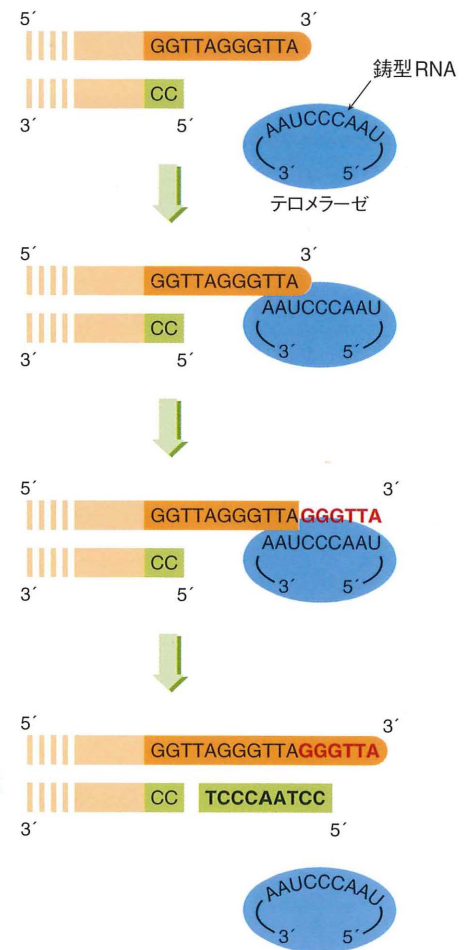
1 テロメア DNA 鎖と不完全なラギング鎖

2 テロメア DNA にテロメラーゼが結合

3 鋳型 RNA に相補して 3' 末端 DNA の伸長

4 DNA ポリメラーゼによるラギング鎖の合成

テロメラーゼの解離



遺伝情報の 発現と伝達

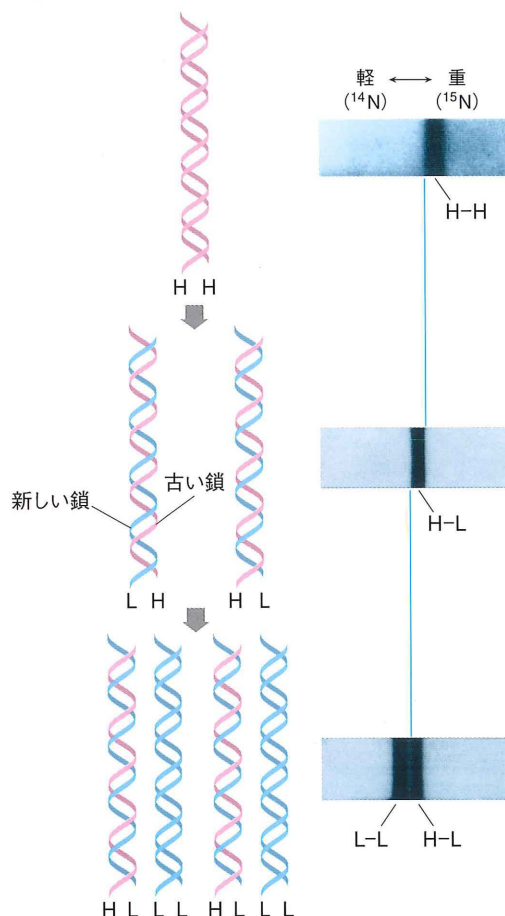
遺伝子の複製と修復

4 DNAの複製

細胞内では細胞分裂時の複製と損傷を受けたDNAの修復時にDNAが生合成される。細胞増殖の基本はDNAの複製であり、新しくできる細胞は親細胞と同じ遺伝情報が伝えられなければならない。遺伝情報を正確に維持することは種の保存や細胞の生存に必須であり、遺伝子に生じた異常な変化は直ちに修復される。

1 DNAの半保存的複製

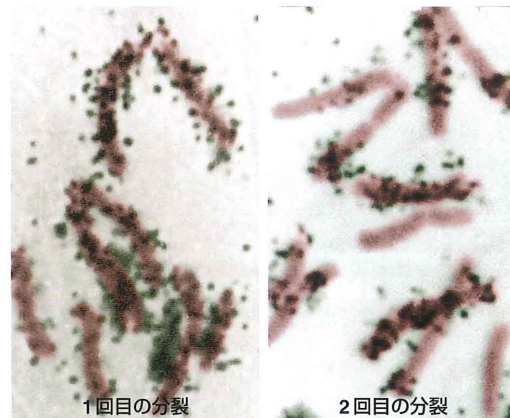
WatsonとCrickの二重らせんモデルは、DNAが半保存的複製(semiconservative replication)、すなわち二本鎖DNAがほどけ、それぞれの一本鎖DNAが鋳型となり、その塩基配列に規定された新しいDNA鎖が合成されることを説明している。



➡ 真核細胞の半保存的複製の証明

成長中のユリの根の細胞を ^3H -チミンで短時間標識した後、定時的にオートラジオグラフを観察した。最初の分裂では両方の姉妹染色分体が標識されるが、2回目の分裂では片方だけが標識されていた。

(Taylor, J.H., Woods, P.S. & Hughes, L.H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 43 : 122, 1957)



🔗 原核細胞の半保存的複製の証明

大腸菌をあらかじめ ^{14}N (軽い窒素) のかわりに ^{15}N (重い窒素) を含む培地で培養後、通常の ^{14}N 培地に移して育成させ、DNAを抽出し塩化セシウム密度勾配遠心分離して観察した。その結果、第一世代ではDNAの密度は重いDNAと軽いDNAの中間であり、第二世代では半分が重いDNAと軽いDNAの中間で、他の半分は軽いDNAであった。

(Meselson, M. & Stahl, W.F. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 44 : 671, 1958)

📌 原核生物 (大腸菌) のDNAポリメラーゼ

	DNA ポリメラーゼ I	DNA ポリメラーゼ II	DNA ポリメラーゼ III
存在様式	単量体	不明	多種類のサブユニット
分子量	109 kDa	120 kDa	250 kDa以上
機能	DNA修復	不明 (修復?)	DNA複製
遺伝子	<i>polA</i>	<i>polB</i>	<i>polC</i> (<i>dnaE</i>), <i>dnaN</i> , <i>dnaX</i> , <i>dnaQ</i> など

📌 真核生物 (哺乳類) のDNAポリメラーゼ

	DNA ポリメラーゼ α	DNA ポリメラーゼ β	DNA ポリメラーゼ γ
存在様式	多種類のサブユニット	単量体	単量体
分子量	110 ~ 220 kDa	45 kDa	60 kDa
細胞内局在	細胞核	細胞核	ミトコンドリア
機能	核DNAの複製	不明 (修復?)	ミトコンドリアDNAの複製

2 複製の機構

DNAの複製は染色体上に存在する特定の複製開始点から両方向に進行する。高等動物では1つの染色体中に数多くの複製開始点が存在し、短時間に複製できる。

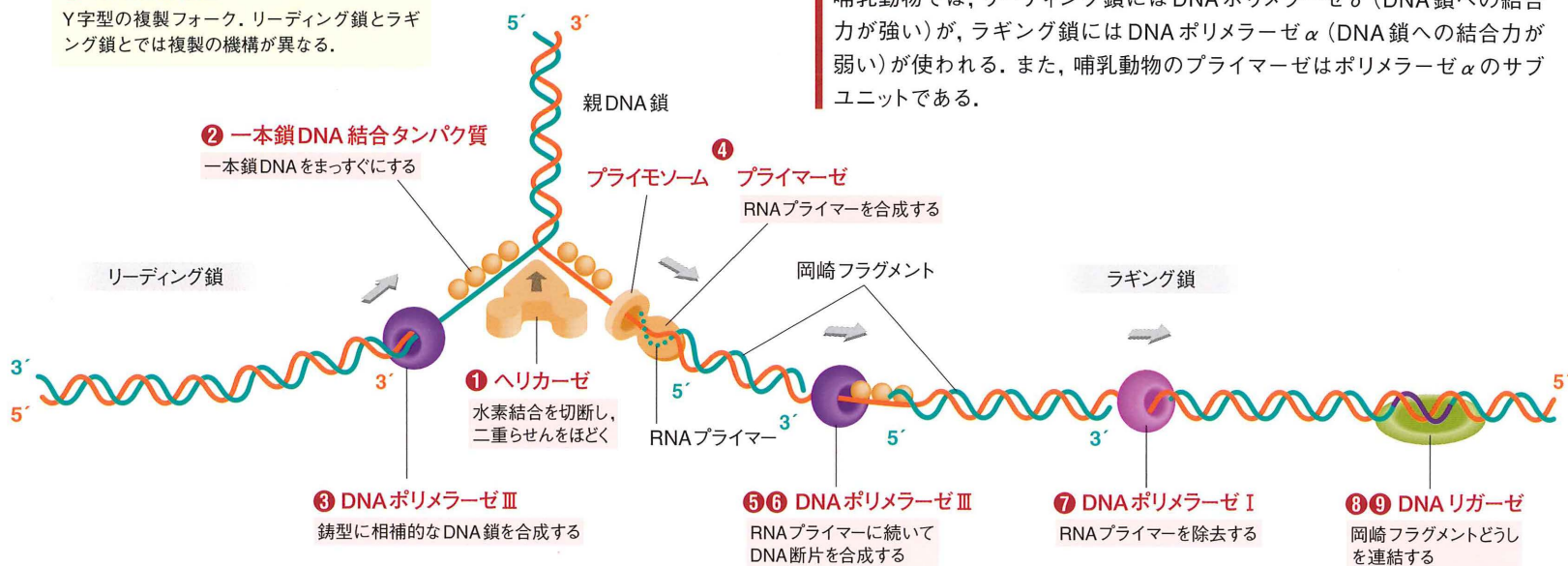
3 Y字型複製と不連続的複製

二本鎖DNAの二重らせん構造がほどけ、それぞれの一本鎖DNAを鋳型にして新しいDNA鎖が合成される。合成が進んでいる部分はY字型を呈し、その部分を複製フォーク(replication fork)と呼ぶ。

DNAの二本鎖はそれぞれ逆平行(5'→3'と3'→5')であり、DNAポリメラーゼのDNA合成は5'→3'の方向にしか伸長できないので、同じ機構で両鎖を同時には合成できない。この矛盾は岡崎令治博士の研究によって解決された。Y字型の複製部分の中で3'→5'方向の鋳型は連続的に5'→3'方向へ伸長され、これをリーディング鎖(leading strand)という。これに対して5'→3'方向の鋳型は不連続に短いDNA鎖の合成が行われ、これをラギング鎖(lagging strand)という。ラギング鎖合成で生じるDNA断片は発見者にちなんで岡崎フラグメントと呼ばれ、最終的にはDNAリガーゼ(DNA ligase)によって結合される。

④ DNAの複製反応

Y字型の複製フォーク。リーディング鎖とラギング鎖とは複製の機構が異なる。



4 DNA複製の反応系

① 二本鎖DNAにヘリカーゼ(helicase)が結合し、二本鎖DNAをほどいて一本鎖DNAにする。

② 一本鎖DNAに一本鎖DNA結合タンパク質(single strand binding protein)が結合する。

③ リーディング鎖では、DNAポリメラーゼⅢにより鋳型と相補的なデオキシヌクレオチド三リン酸が重合されてDNA鎖を合成する。

④ ラギング鎖では、一本鎖DNAにdnaBタンパク質が結合し、さらにプライマーゼ(primase)がプライモソームと呼ばれるタンパク質複合体と一緒に働いて短鎖のRNAプライマーを合成する。

⑤ DNAポリメラーゼⅢがRNAプライマーの3'末端にDNA鎖(岡崎フラグメント)を合成する。

⑥ DNA合成が進行するにつれて、一本鎖DNA結合タンパク質がDNA鎖からはずれる。

⑦ DNAポリメラーゼⅠがRNAプライマーを5'末端から除去しながらDNAヌクレオチドに置換していく。

⑧ DNAリガーゼが岡崎フラグメントの3'-OHと5'リン酸を結合させる。

⑨ DNA複製の終了部分にトポイソメラーゼ(topoisomerase)が働いて、ねじれを与え二重らせん構造にする。

DNAポリメラーゼと複製に必要なタンパク質の集合体を、レプリカーゼ(replicase)またはレプリソーム(replisome)と呼ぶ。

哺乳動物では、リーディング鎖にはDNAポリメラーゼ δ (DNA鎖への結合力が強い)が、ラギング鎖にはDNAポリメラーゼ α (DNA鎖への結合力が弱い)が使われる。また、哺乳動物のプライマーゼはポリメラーゼ α のサブユニットである。

遺伝情報の 発現と伝達

遺伝子の複製と修復

5 DNAの修復

遺伝情報を正確に維持することは生体にとって必須のことであり、複製の過程や外的要因によって引き起こされるDNAの損傷は直ちに修復する必要がある。

④ 除去修復

損傷を受けたDNA鎖部分を酵素的に除去し、修復する。

1 DNAの損傷

① 脱プリン 熱や酸によってプリン塩基が脱落し、塩基配列の欠損部分ができてしまう。脱プリンが起きた部位をAP部位 (apurinic site) という。

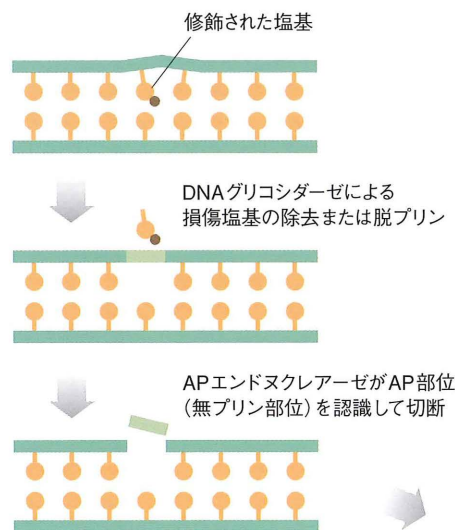
② 塩基の修飾 塩基に脱アミノが起こるとシトシンはウラシルに、アデニンはヒポキサンチンに変化し、塩基の不対合が起こる。また、アルキル化によってメチルアデニンやメチルグアニンができ、塩基の対合に誤りを起こす。

③ ピリミジンダイマー 紫外線や放射線によって隣り合うピリミジン間で共有結合が起こり、2量体を形成する(チミジンダイマーの形成頻度が高い)。その結果、塩基の不対合やDNA鎖の構造的歪みが起こる。

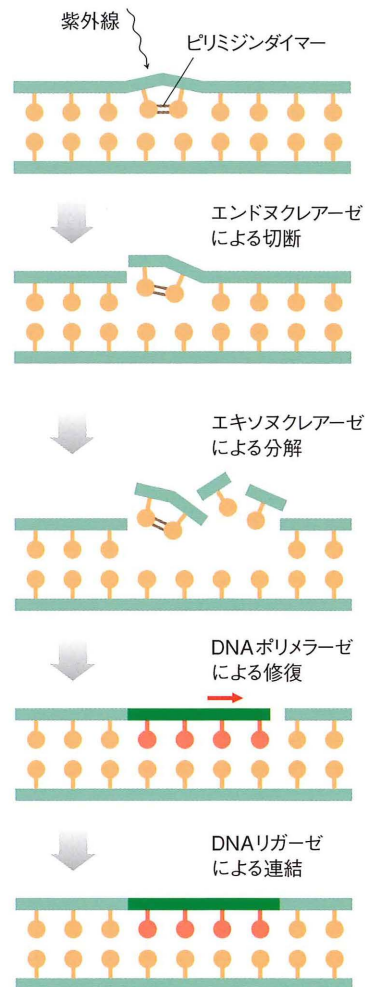
④ 架橋形成 塩基に反応性の高い物質の中には、マイトマイシンCのようにグアニン間に入り込んでDNAの二本鎖間に架橋 (crosslink) を形成するものがある。そのため、DNA複製の停止が起こる。

⑤ DNA鎖の損傷 放射線照射によってDNAの切断が起こる。DNA鎖の損傷が起こると修復が困難で、細胞に対する致死効果が高い。

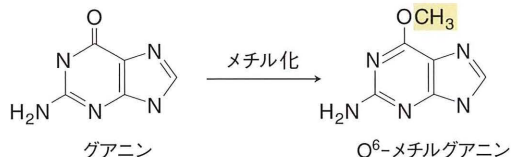
損傷の小さい場合



損傷の大きい場合



④ 塩基の修飾による損傷 (脱アミノとメチル化)



2 DNA修復の機構

① 除去修復 ピリミジンダイマーのように損傷が大きい場合は、エンドヌクレアーゼにより損傷部分の両端のリン酸ジエステル結合を切断し除去後、DNAポリメラーゼ I の作用により正しい塩基配列が形成され、最後にDNAリガーゼが連結して終了する。

損傷部分が小さい場合は、まず異常塩基部分をDNAグリコシダーゼにより除去し、次いでAP (apurinic, apyrimidic) エンドヌクレアーゼが近くのヌクレオチドのリン酸ジエステル結合を切断し、さらに5'→3'エキソヌクレアーゼが3'側のヌクレオチドを取り除く。そして、切れ目部分からDNAポリメラーゼ I とDNAリガーゼにより修復される。

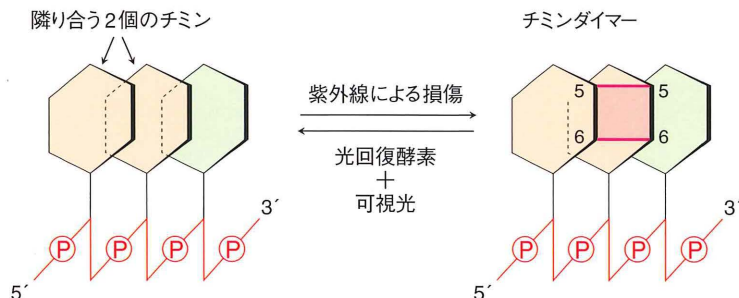
② 光回復修復 ピリミジンダイマーは除去修復のほか、光回復機構により修復されることがある。可視光によって活性化される酵素がピリミジンダイマーの共有結合を解消して、正常な塩基対を回復させる。

③ 複製後修復 損傷部分を残して複製が進行し、残った部分はDNA鎖の組換えにより供給され、損傷部分が除去される。

DNA修復は巧妙に働いて環境因子による遺伝子の障害を回避しているが、これらの修復機構に先天性な異常があると重篤な疾患を引き起こす。色素性乾皮症はチミジンダイマーの除去修復に働くエンドヌクレアーゼ活性が低下しており、日光過敏症と皮膚癌を発生する。そのほか、X線に対する感受性が高く抗体産生能が低下する末梢血管拡張失調症や、高頻度の発癌と再生不良性貧血を引き起こすFanconi貧血症が知られている。

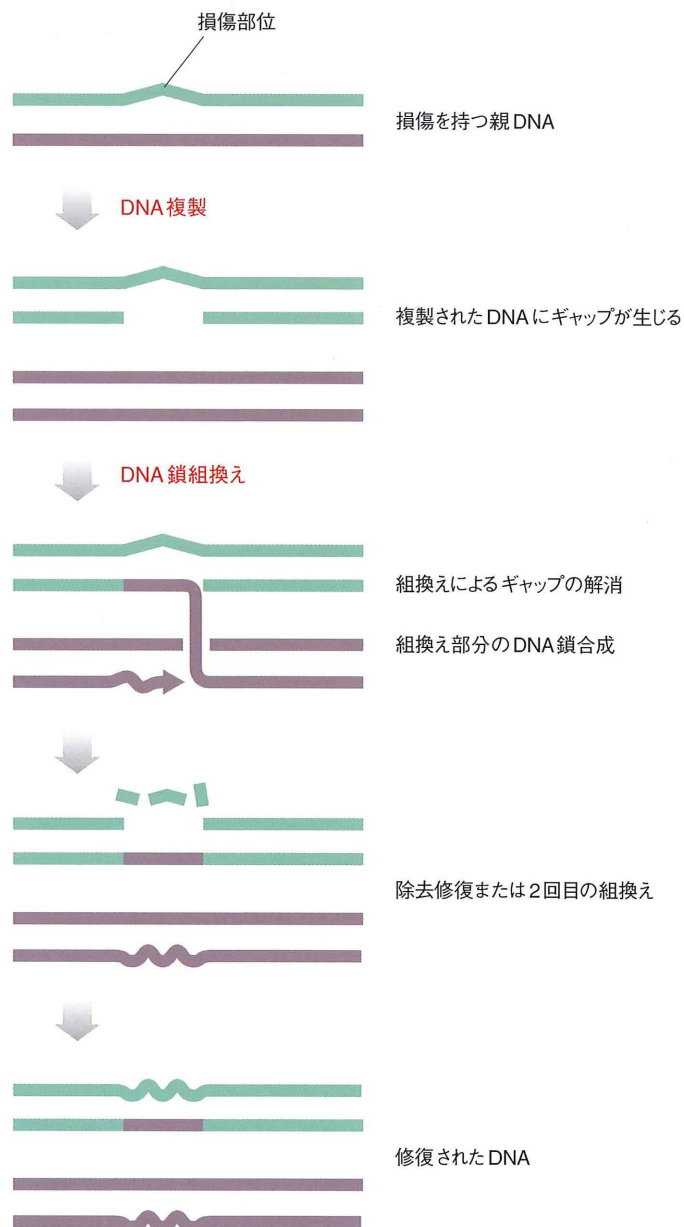
④ 光回復修復

可視光により活性化される酵素によって正しい塩基対を回復する。



⑤ 複製後修復

異常部分を残して複製し、あとで異常部分のギャップを修復する。



遺伝情報の 発現と伝達

遺伝子の発現

6 RNAの合成とプロセッシング

遺伝情報が、DNA $\xrightarrow{\text{転写}}$ RNA $\xrightarrow{\text{翻訳}}$ タンパク質と伝達されることは、ほとんどの生物に共通しており、これをセントラルドグマ (central dogma) と呼ぶ。

1 遺伝子発現の仕組み

① 転写 (transcription) : 核内の染色体DNAに書き込まれた遺伝情報をRNAポリメラーゼがRNAにコピーし、mRNA, tRNA, rRNAが合成される。遺伝子発現の調節は、多くの場合、転写の段階で行われている。

② 翻訳 (translation) : mRNAがリボソームに結合し、コピーされたRNAの塩基配列に規定されたトリプレットコードにしたがってtRNAが運搬するアミノ酸をペプチド結合させてタンパク質を合成する。

④ 原核細胞と真核細胞の遺伝子発現

原核細胞は核をもたず、合成されたmRNAはそのままリボソームに結合してタンパク質合成の鋳型として働き、転写と翻訳が共役進行する。真核細胞は核内で合成されたmRNA前駆体が、キャッピング、ポリAの添加、スプライシングの過程を経て核膜を通過し、細胞質に出てリボソームに結合し、タンパク質合成が進行する。

2 RNAポリメラーゼ

DNAのヌクレオチド配列を転写してRNAを合成する酵素は、DNA依存性RNAポリメラーゼ (DNA dependent RNA polymerase) である。真核細胞では右表に示すように3種類の存在が知られている。

④ RNAポリメラーゼの種類

	酵素名	局在	転写するRNA
原核細胞	RNAポリメラーゼ	細胞質	mRNA, tRNA, rRNA
真核細胞	RNAポリメラーゼ I	核小体	rRNA
	RNAポリメラーゼ II	核質	mRNA (hnRNA), snRNA
	RNAポリメラーゼ III	核質	tRNA

hnRNA (heterogenous nuclear RNA) スプライシングされる前の前駆体RNA
snRNA (small nuclear RNA) mRNA スプライシングに用いられる

⑤ β-グロビン遺伝子の塩基配列

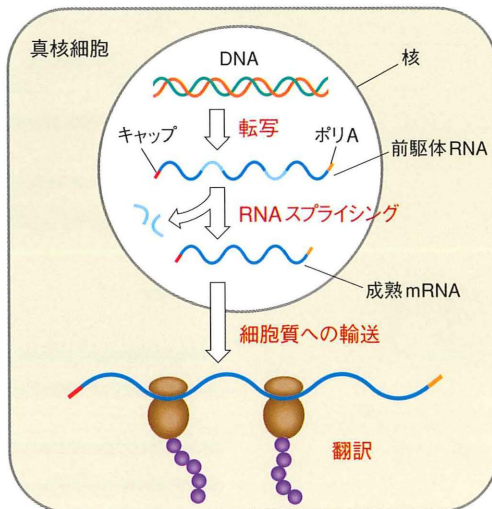
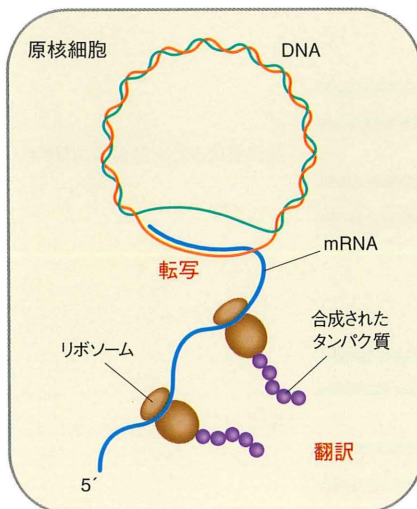
ヘモグロビンの構成タンパク質であるβ-グロビンのゲノム遺伝子の塩基配列。β-グロビンのアミノ酸配列とゲノム遺伝子の塩基配列を比べていくと、途中から遺伝コードが合わない部分 (イントロン部分の塩基配列) があり、エクソン部分で再び遺伝コードが合うことになる。

GT - AG イントロン-エクソンの接合部

AATAAA ポリA付加のシグナル配列

ATCTACTCCAGGAGCAGGAGGGCAGGAG 5'
CCAGGGCTGGGCATAAAAATCAGGGCAGAG
CCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACAC
AACTGTGTTCACTAGCAACTCAACAGACA
CCATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGT
CTGCCGTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGA
ACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAAGCCCTGG
GCAGGTTGGTATCAAGGTTACAAGACAGGT
TTAAGGAGACCAATAGAACTGGGCATGTG
GAGACAGAGAAGACTCTTGGGTTCTGTGATA
GGCACTGACTCTCTCTGCTATTGGTCTAT
TTTCCACCCCTTACGCTGCTGGTGTCTAC
CCTTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCCCTTT
GGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATG
GGCAACCTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAG
AAAGTGCTCGGTGCCTTTAGTGATGGCCTG
GCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTT
GCCACACTGAGTGAGCTGCACTGTGACAAG
CTGCACGTGGATCTCAGAACTTCAGGGTGTG
AGTCTATGGGACCCTTGATGTTTCTTTTCC
CCTTCTTTCTATGTTTAAAGTTTCATGTGAT
AGGAAGGGGAGAAGTAACAGGGTACAGTTT
AGAATGGGAAACAGACGAATGATTGCATCA
GTGTGGAAGTCTCAGGATCGTTTATGTTTC
CTAATAGCAGCTACAATCCAGTACCATTTC
TGCTTTTATTATTTATGTTGGGATAAGGCTG
GATTATTTCTGAGTCCAAGCTAGGCCCTTTT
GCTAATCATGTTTCATACCTCTTATCTTCTCT
CCCACAGCTCCTCTGGGCAACGTGCTGGTGTG
TGTGCTGGCCCATCACTTTGGCAAAGAATT
CACCCACCAAGTGCAGGCTGCCTATCAGAA
AGTGGTGGCTGGTGTGGCTAATGCCCTGGC
CCACAAGATTCACTAAGCTTCGCTTTCTTGC
TGTCCAATTTCTATTAAAGGTTCCCTTTGTT
CCCTAAGTCCAACCTAATAACTGGGGGATA
TTATGAAGGGCTTGAGCATCTGGATTCTG
CCTAATAAAACAACTTTATTTTCATGTGCA
TGATGTATTTAAATTATTTCTGAATATTTT
ACTAAAAAGGGAATGTGGGAGGTCAAGTCA

リーダーヘプタド配列
エクソン1
イントロンA
エクソン2
イントロンB
エクソン3
非翻訳配列



3 RNA合成の特徴

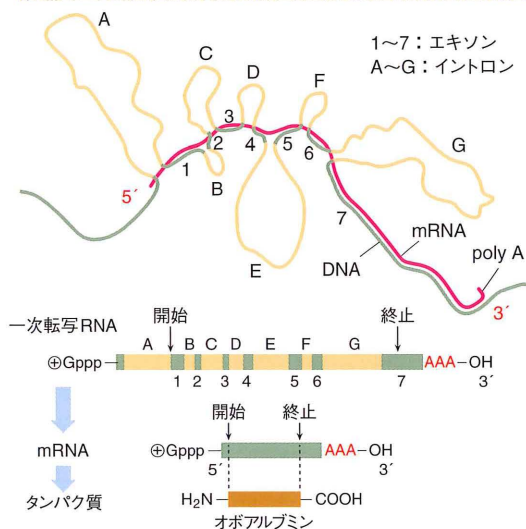
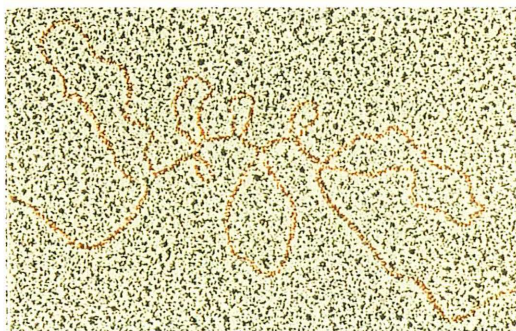
① 鋳型 DNA の塩基配列に相補的なヌクレオチド配列が合成される。ただし、**アデニンに対してはウラシルである。**

② 鋳型となるのは二本鎖 DNA の一方であり、これを鋳型鎖 (sense strand) という。他方を反鋳型鎖 (antisense strand) といい、鋳型鎖の選択は同一 DNA 鎖でも遺伝子の部位によって異なる。

③ 5'→3' 方向に RNA 鎖を合成し、プライマーは必要としない。

🔍 オボアルブミン mRNA のスプライシングを示す電顕写真

mRNA とゲノム DNA 鋳型鎖とをハイブリダイズさせてヘテロデュプレックスを形成したものを電子顕微鏡で観察した。下段はオボアルブミン遺伝子の mRNA スプライシングのプロセス。 (Chambon, P.: *Scientific American* 244 (5); 60, 1981)



4 mRNA スプライシング

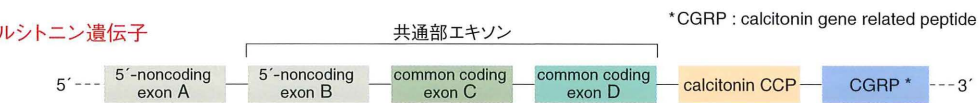
真核細胞では転写によって生成された前駆体 RNA は切断や修飾を受け、機能をもった成熟 RNA に転換される。この過程をプロセッシング (processing) という。真核細胞の mRNA のプロセッシングを特に mRNA スプライシング (splicing) と呼ぶ。

リボソームに結合している成熟した mRNA は、染色体内の対応する遺伝子の DNA に比べてかなり短い。一方、DNA の塩基配列には成熟 mRNA に存在しない部分がある。これは核内での mRNA スプライシングにより切り取られる部分で、イントロン (intron) と呼ばれる。成熟 mRNA を構成しタンパク質をコードする部分をエキソン (exon) という。

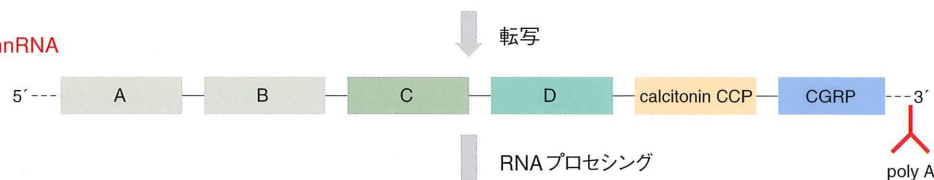
🔍 カルシトニン遺伝子のスプライシング

同一遺伝子の転写 RNA から、スプライシングの位置の違いによって、それぞれの臓器で異なる生理作用をもつ遺伝子産物が作られる。カルシトニン遺伝子は、甲状腺では血清 Ca²⁺ 濃度を低下させるカルシトニンを作るが、脳の視床下部ではカルシトニン遺伝子関連ペプチドを合成し、自律神経活動の制御に働く。 (Rosenfeld, M.G., et al.: *Nature* 304; 129, 1983)

カルシトニン遺伝子



核 hnRNA



(甲状腺C細胞)

(視床下部)

mRNA

カルシトニン mRNA

CGRP mRNA



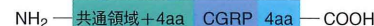
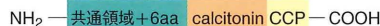
翻訳

翻訳

翻訳産物

(分子量 17400)

(分子量 15900)



プロセッシング

最終産物

カルシトニン

カルシトニン遺伝子関連ペプチド

血清 Ca²⁺ の低下

疼痛、自律神経活動の制御

5 mRNA スプライシングの機構

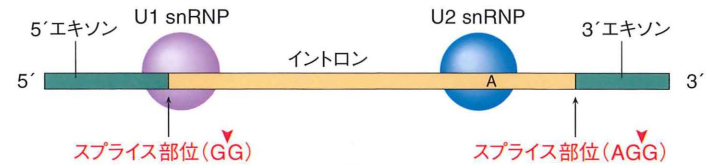
① スプライソソーム (spliceosome) は複数の低分子リボ核タンパク質 (small nuclear ribonucleoprotein ; snRNP) と複数の核内の低分子 RNA (small nuclear RNA ; snRNA) の複合体で、スプライシング過程での mRNA の切断と再結合に働く。

② snRNP は約 10 種類あり、snRNA には U1, U2, U4, U5, U6 の 6 種類がある。

③ インترونとエキソンの接合部にはコンセンサス配列があり、イントロン両端の 2 塩基には 5'-GU と AG-3' の出現率が高い。

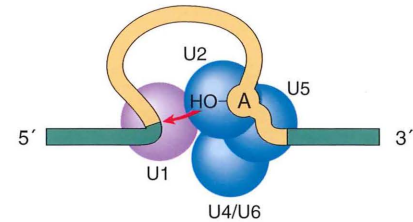
④ snRNA の塩基配列の一部がイントロン-エキソン境界領域と相補的に対合を作ると考えられている。ハイブリッドを形成する合成オリゴヌクレオチドを加えると、スプライシングが阻害される。

mRNA 前駆体



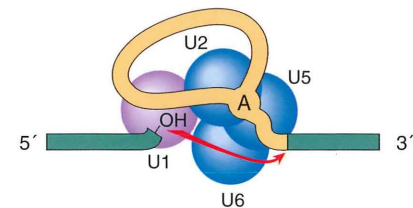
U5, U4/U6 など

スプライソソームの形成

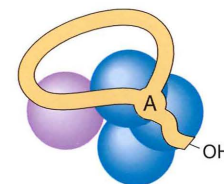


U4

投げ縄構造の形成
スプライス部位の切断



イントロンの切除
エキソンの連結



成熟 mRNA 5' 3'

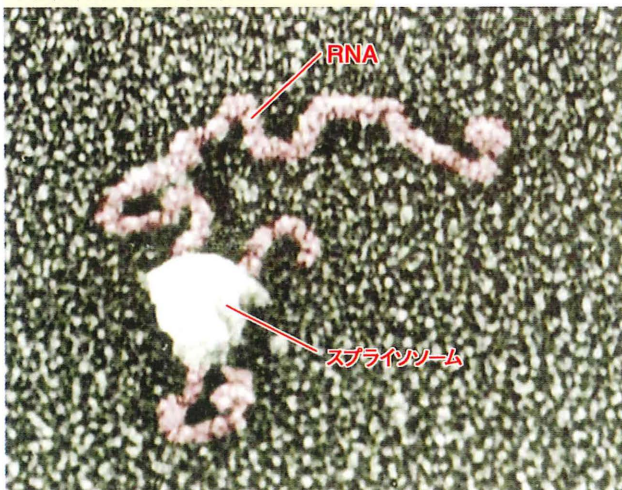
➡ スプライシングの機構

U1 RNA がイントロン-エキソン接合部を認識すると、U1 snRNP がイントロンの 5' 末端部位に結合し、その部分をイントロン 3' 末端部位から約 30 塩基上流のアデノシン残基 (A) が攻撃し mRNA を切断する。生じたイントロン 5' 末端のリン酸は A の 2'-OH に結合し、A 部位で枝分かれた投げ縄構造を作る。U2 snRNP はこの構造の形成に働き、続いてイントロンが結合し、3' 末端部位の切断が起こり、投げ縄構造が遊離する。最後にエキソンの両端が結合してスプライシングが完了する。U5, U4, U6 RNP はこのプロセスに働き、U4, U6 RNP は切断・結合反応を触媒する。

📷 スプライソソームの電顕写真

β-グロビン前駆体 mRNA に細胞抽出液を作用させてスプライシング途中を撮影した。

(Reid, R., et al. : Cell 53 ; 949, 1988)



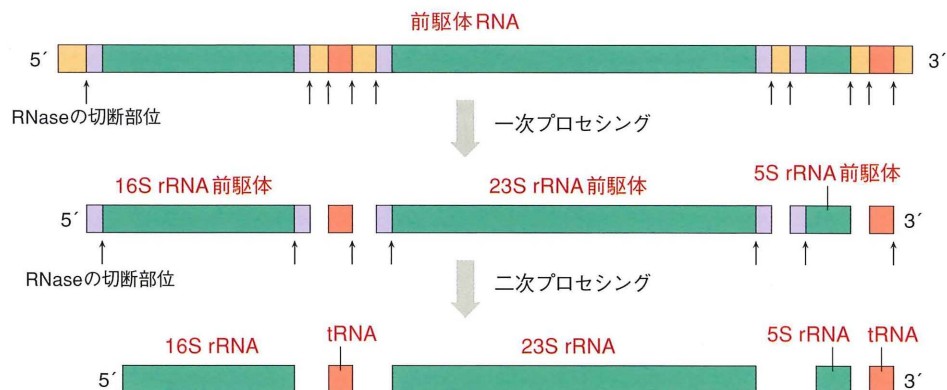
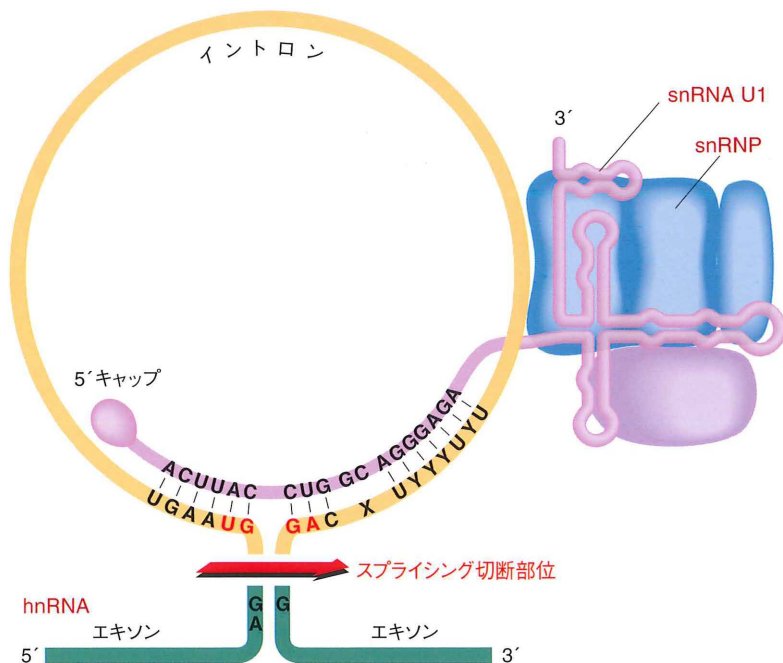
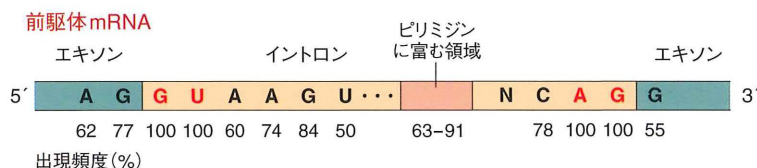
6 rRNAとtRNAのプロセシング

RNAポリメラーゼによって合成された前駆体から、リボヌクレアーゼ (RNase) や RNA 分子のみで RNA 分解酵素活性をもつリボザイム (ribozyme) などの働きによってプロセシングされる。

④ イントロン-エキソン接合部のコンセンサス配列とハイブリッド形成の想像図

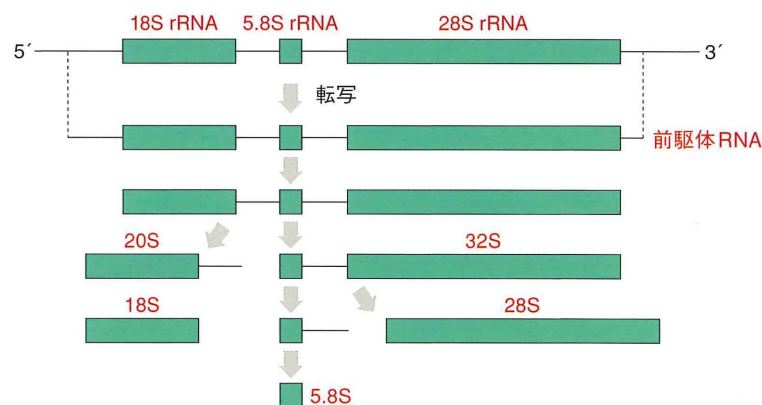
上段：前駆体 mRNA のイントロン-エキソン接合部には普遍的な塩基配列が存在し、イントロンの最初の部分の GU 2塩基と最後部分の AG 2塩基は脊椎動物ではほとんど 100% 保存されている。

下段：イントロン-エキソン接合部の GU と AG 付近の塩基配列に U1 RNA の 5' 末端部の相補的配列が結合してスプライシング位置を認識する。



④ 原核細胞 tRNA, rRNA のプロセシング

大腸菌の例では、16S rRNA、23S rRNA、5S rRNA と tRNA から構成される 30S 前駆体がメチル化を受けた後、複数のリボヌクレアーゼによって切り出される。tRNA はさらにリボザイムが働き、3' 末端へ CCA が付加して完成する。



④ 真核細胞 rRNA のプロセシング

18S rRNA、5.8S rRNA、28S rRNA が 45S 前駆体として核小体内で合成され、rRNA として残る部分にメチル化を受けた後、プロセシングされる。5S rRNA は別の DNA 領域にコードされている。tRNA は、スプライシング、3' 末端への CCA 付加、塩基の修飾を受けて完成する。

遺伝情報の 発現と伝達

遺伝子の発現

7 転写の調節

遺伝子 DNA から mRNA への転写の調節には、遺伝子の上流あるいは下流に存在する転写調節領域が重要な働きをしている。生命現象は種々の遺伝子発現の制御における相互作用の上に成り立っており、その仕組みを分子レベルで理解する必要がある。

1 転写の仕組み

転写の開始点と終結点は、DNA 鎖上の特異的な塩基配列によって規定されている。そして、転写開始点より上流（5' 側）に RNA ポリメラーゼが転写を開始するために結合する DNA 領域、プロモーター（promotor）が存在する。

RNA ポリメラーゼがプロモーター配列の DNA に結合して転写が開始するが、そのためには**基本的転写因子**が必要である。また、転写開始点から離れた特異塩基配列の調節エレメントに種々の転写因子（transcription factor）と呼ばれるタンパク質が結合する必要がある。転写に影響するプロモーターや調節エレメントが同一鎖上にあるとき、シス（cis；ラテン語で“こちら側”）位にあるといい、その DNA 配列をシス-エレメント（cis-element）という。異なる鎖上にあるときをトランス（trans；ラテン語で“横切って”）位にあるといい、その特異配列に結合する転写因子の働きをトランス作用因子（trans-acting factor）と呼ぶ。

原核細胞のプロモーターの構造

- ➡ 大腸菌の種々のオペロンのプロモーター領域
- ⑧ プロモーター領域のコンセンサス配列。転写開始点（+1 と表示する）の -10 塩基上流域に約 6 塩基（TATATT）からなる共通配列（Pribnow box と呼ばれている）、-35 塩基上流に TTGAC の共通配列が存在する。

オペロン

	-35 領域	Pribnow box -10 領域	転写開始部位 +1
<i>lac</i>	ACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCG	TATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG	
<i>galP2</i>	ATTTATTCCATGTCACACTTTTCGCATCTTTGT	TATGCTATGGTTATTTTCATACCAT	
<i>araBAD</i>	GGATCCTACCTGACGCTTTTATCGCAACTCTCT	TACTGTTTCTCCATACCCGTTTTTT	
<i>araC</i>	GCCGTGATTATAGACACTTTTGTACGCGTTTTT	TGTCATGGCTTTTGCTCCCGCTTTG	
<i>trp</i>	AAATGAGCTGTTGACAATTAATCATCGAAGTAG	TTAAC TAGTACGCAAGTTCACGTA	
<i>bioA</i>	TTCCAAAACGTGTTTTTTTGTGTTAATTCGGTG	TAGACTTGTAACCTAAATCTTTTT	
<i>bioB</i>	CATAATCGACTTGTAACCAAAATTGAAAAGATT	TAGGTTTACAAGTCTACACCGAAT	
<i>tRNA^{Trp}</i>	CAACGTAACACTTTACAGCGGCGCGTCATTTGA	TATGATGCGCCCCGCTTCCCGATA	
<i>rrnD1</i>	CAAAAAAATACTTGTCAAAAAATTGGGATCCC	TATAATGCGCCTCCGTTGAGACGA	
<i>rrnE1</i>	CAATTTTTCTATTGCGGCCTGCGGAGAACTCCC	TATAATGCGCCTCCATCGACACGG	

5' — TAGTGTA **TTGACA** TGATAGAAGCACTCTAC **TATATT** CTCAATAGGTCACG — 3'
3' — ATCACATAACTGTACTATCTTCGTGAGATGATATAAGAGTTATCCAGGTGC — 5'

合成開始点 ▲

転写

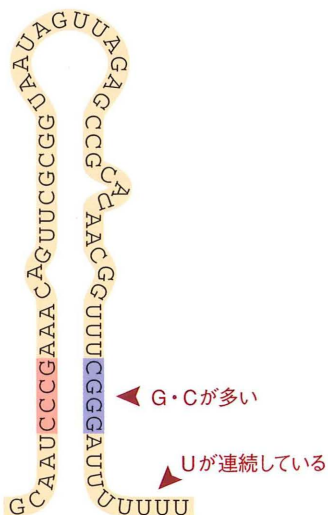
RNA

5' — GCAATCCCGAAACAGTTCGCGGTAATAGTTAGAGCCGCATAACGGTTTCGGGATTTTTTT — 3' DNA 鋳型鎖
 3' — CGTTAGGGCTTTGTCAAGCGCCATTATCAATCTCGGCGTATTGCCAAAGCCCTAAAAAAA — 5'

転写

5' — GCAAUCCCGAAACAGUUCGCGGUAAUAGUUAGAGCCGCAUAACGGUUUCGGGAUUUUUUU — 3' 転写産物 RNA

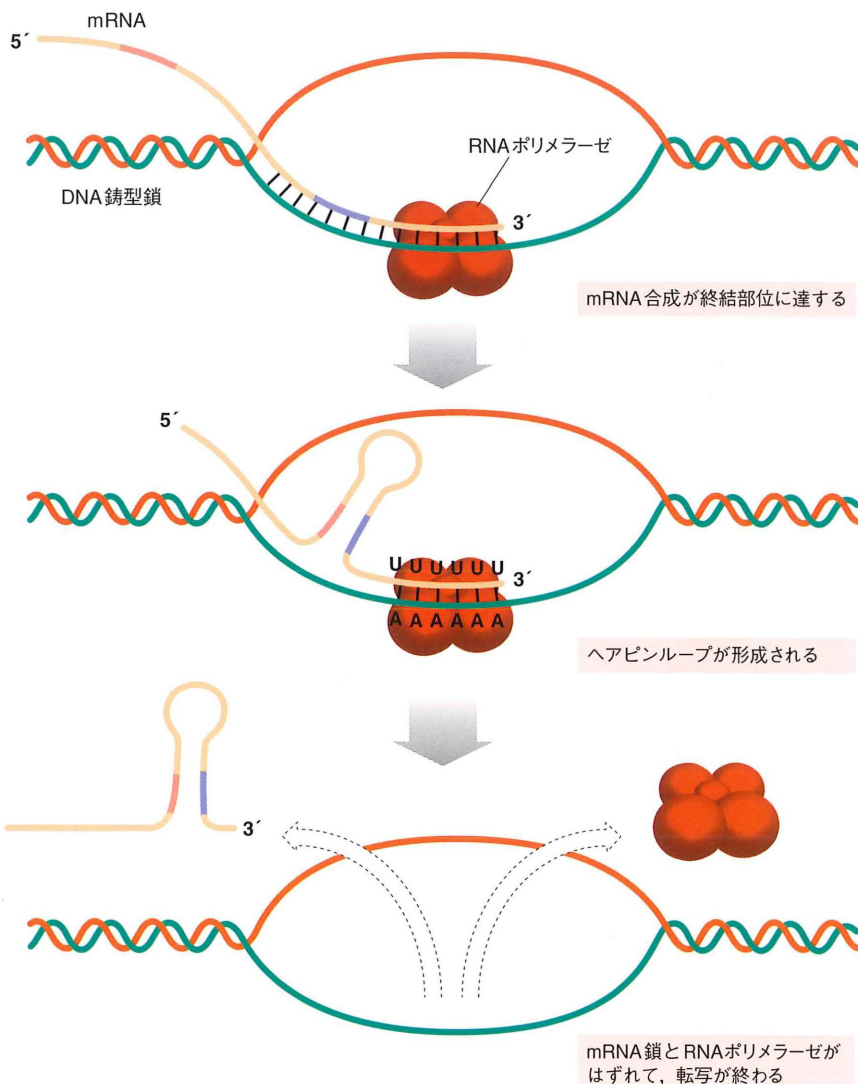
ヘアピン構造を作る



原核細胞のロー非依存性ターミネーターの構造

① 停止コドン下流域にロー非依存性ターミネーターが存在する。構造上2つの特徴があり、7～20bのヘアピンループをつくるパリンドーム領域と、約6bの連続したUがある。

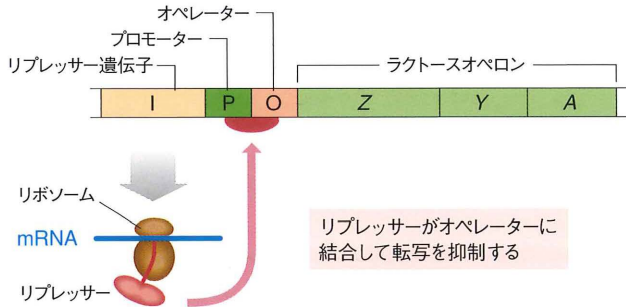
② mRNAのロー非依存性ターミネーター領域がヘアピンループをつくり、結合の弱いUUUUUU—AAAAAA塩基対は、mRNAとRNAポリメラーゼを鋳型DNAからはずす。



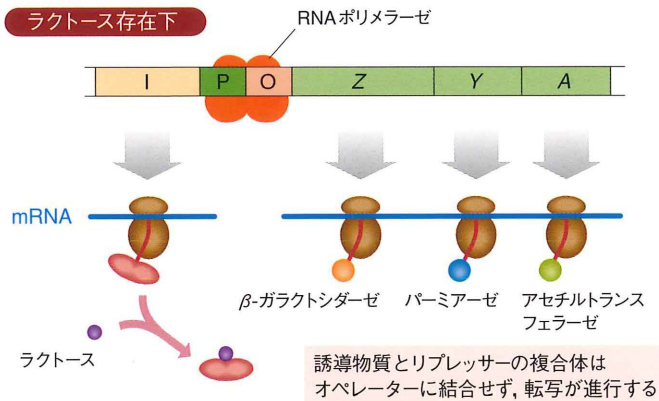
3 原核細胞の転写調節

原核細胞では1個のプロモーターが複数の構造遺伝子の制御に関与し、その遺伝子群をオペロン (operon) と呼ぶ。オペロンの遺伝子群は特定の代謝経路の酵素群をコードしており、それぞれの遺伝子発現は協調的に制御される。

ラクトース非存在下



ラクトース存在下

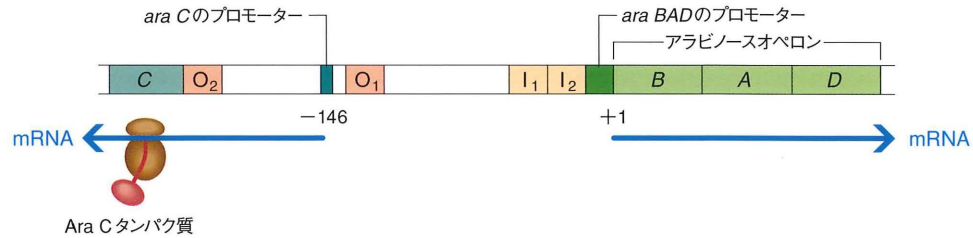


④ ラクトースオペロン (負の調節)

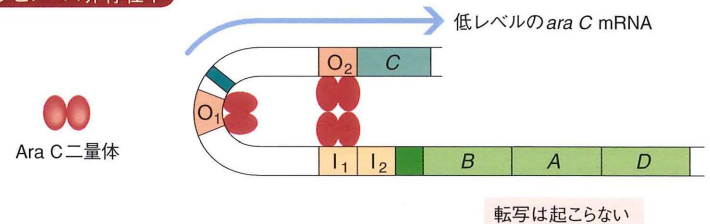
大腸菌のラクトースオペロンは、①β-ガラクトシダーゼ (*lacZ* 遺伝子)、②ラクトース透過酵素 (*lacY* 遺伝子)、③アセチルトランスフェラーゼ (*lacA* 遺伝子) で構成されている。

上段：ラクトースがない培地中で培養した場合、遺伝子群の転写は起こらない。プロモーター上流のリプレッサー (repressor) タンパク質 (*lacI* 遺伝子) がオペレーター (operator) に結合しており、RNAポリメラーゼが結合できないためである。

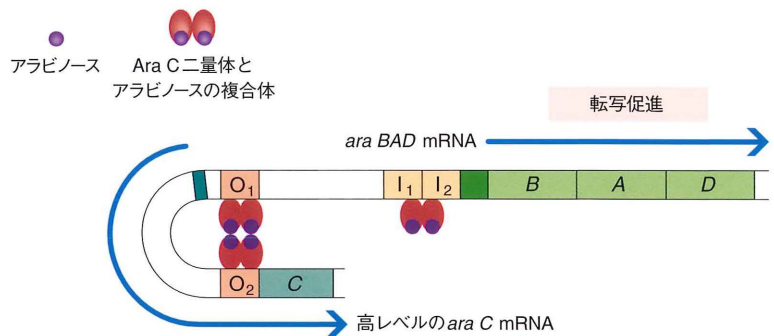
下段：ラクトースを添加するとリプレッサーに作用してプロモーターから解離させ、RNAポリメラーゼがプロモーターに結合し、転写が開始する。この場合、ラクトースを誘導物質 (inducer) という。



アラビノース非存在下



アラビノース存在下



④ アラビノースオペロン (正の調節)

大腸菌のアラビノースオペロンは、①イソメラーゼ (*araB* 遺伝子)、②キナーゼ (*araA* 遺伝子)、③エピメラーゼ (*araD* 遺伝子) で構成されており、アラビノースをキシロース5リン酸に代謝し、解糖系に入る。

上段：アラビノース非存在下では、*araC* 遺伝子がコードする AraC タンパク質二量体は O_1 , I_1 - O_2 に結合してループを形成し、転写は起こらない。

下段：アラビノース存在下では、AraC 二量体にアラビノースが結合し、その複合体は転写を抑制していた I_1 - O_2 ループをほどき、 I_1 , I_2 と結合して *DAB* 遺伝子の転写を活性化する。

4 真核細胞の転写調節

転写開始点から離れた位置にあって転写を促進する特異塩基配列を持つ調節エレメントをエンハンサー (enhancer) と呼ぶ。その反対に、遺伝子発現を抑制する調節エレメントをサイレンサー (silencer) と呼ぶ。調節エレメントは、転写開始部位の上流のみならず下流にも存在することがある。

エンハンサーが転写を促進する機構は、エンハンサーとプロモーターの間にある DNA 部分がループを形成し、エンハンサーに結合する転写調節因子が基本的 (普遍的) 転写因子に作用し、RNA ポリメラーゼの転写活性を促進する。近年、基本的転写因子に加え、エンハンサーの特異塩基配列に結合しうる転写因子のモチーフが解明されつつある。

5 基本的転写因子

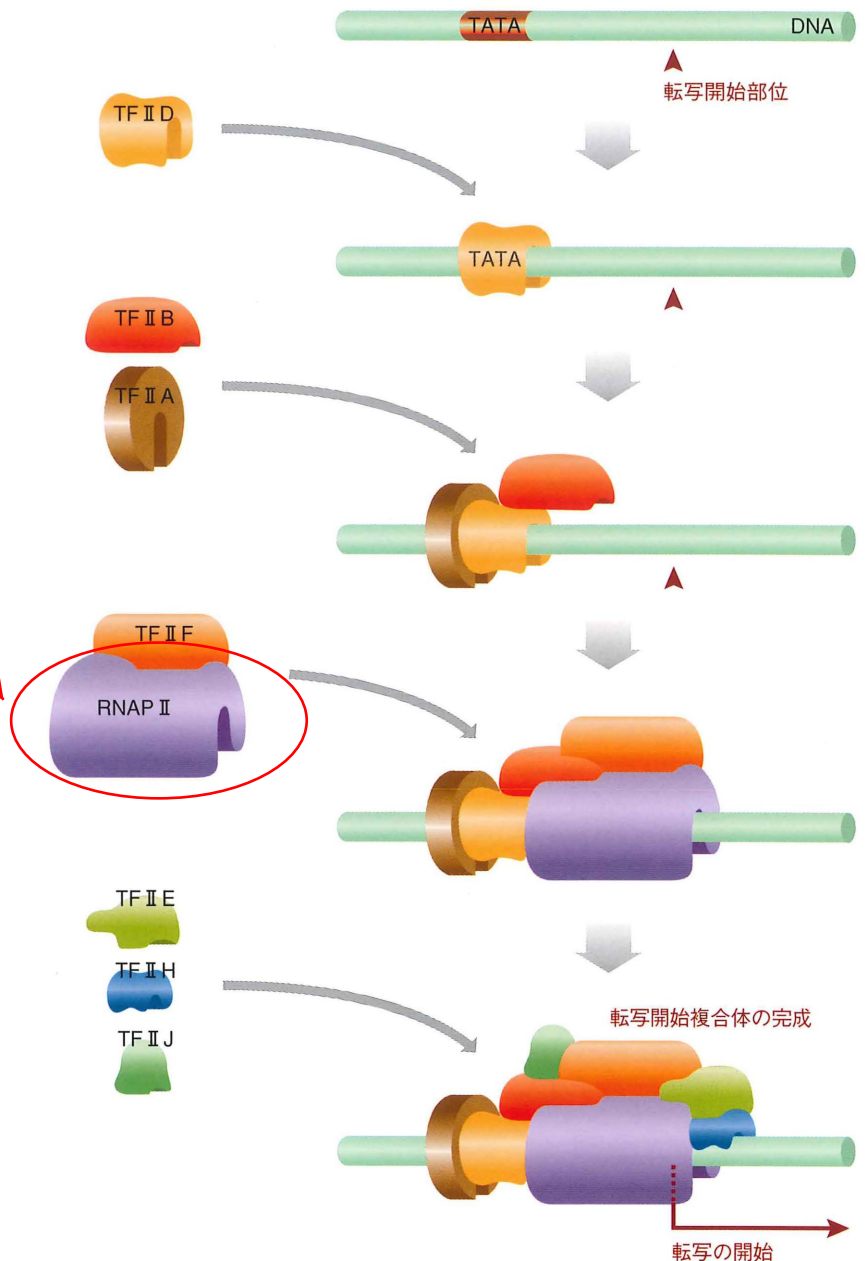
真核細胞のコアプロモーターには、大腸菌の Pribnow box に相当する **TATA box (Hogness box と呼ばれる) 共通配列がある**。TATA box は転写開始部位の -25 ~ 35 塩基上流に位置している。真核細胞の RNA ポリメラーゼ II (RNAP II) は、原核細胞の RNA ポリメラーゼと違ってプロモーターに結合する能力がなく、結合するには補助因子として 7 種の基本転写因子 (または一般転写因子) TF II A, B, D, E, F, H, J が必要である。さらに、mRNA 鎖の伸長と転写活性を最大にするためには TF II S が必要であるといわれている。

TATA box を持たない遺伝子は一般に急速に転写されず、開始部位の -60 ~ 120 塩基上流域に CCAAT や GGGCG の共通配列を持つことが知られている。この配列に変異が起こると転写が減少することから、転写因子の結合部位と考えられる。

⑦ 転写開始複合体の形成

真核細胞の基本的転写因子の転写開始複合体の形成は、プロモーター領域の TATA box に TF II D が結合することで開始する。次いで TF II A, TF II B が結合し、TF II F が RNAP II に結合して複合体に加わり、さらに TF II E, TF II H, TF II J が順に結合して転写開始複合体が形成される。

(Zawel, L. & Reinberg, D. : *Curr. Opin. Cell Biol.* 4 : 490, 1992, 改変)



6 転写活性化因子

転写因子の基本的機能は、エンハンサーの特異配列を認識して結合し、転写を活性化することである。調節因子として機能するためには、DNA 結合ドメインとなる構造モチーフが必要であるが、右下図および次頁の図に示すように、いくつかの転写調節因子モチーフが提唱されている。

④ 転写の分子装置

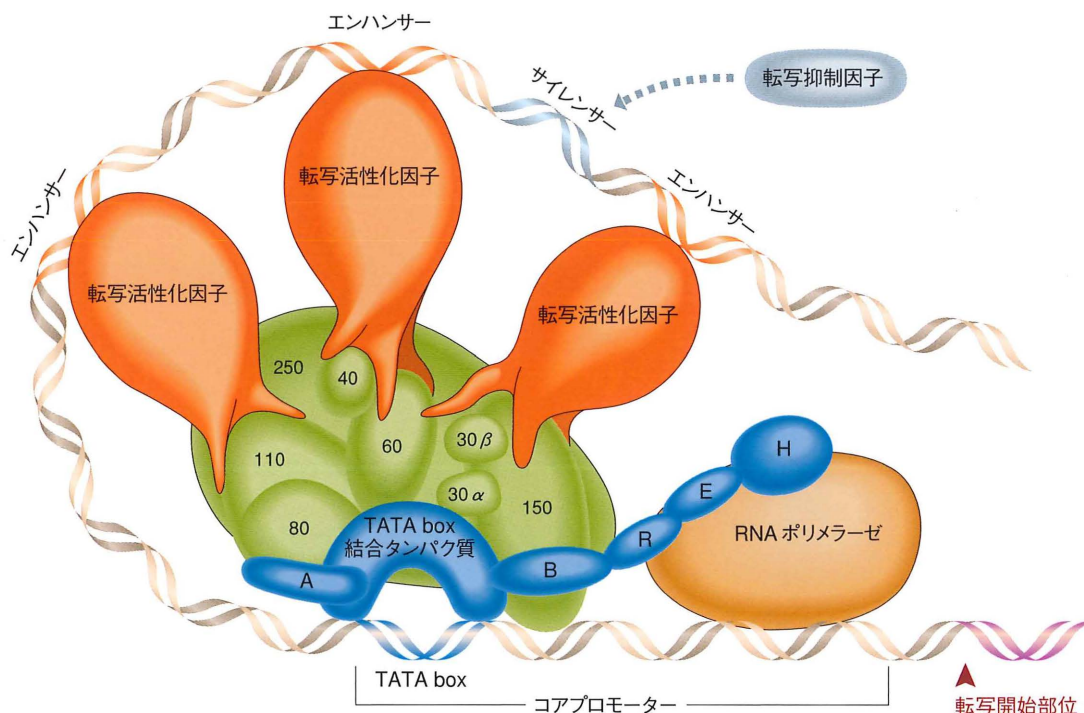
■ 転写活性化因子：エンハンサーの特異 DNA 配列に結合することで、どの遺伝子を発現させるかを規定する。

■ 転写抑制因子：サイレンサーの特異 DNA 配列に結合して、転写活性化因子を抑制する。

■ コアクチベーター：転写活性化因子に結合して基本的転写因子に情報を伝達する。図中の数字は分子量 (kDa)

■ 基本的転写因子：合体を形成し、RNA ポリメラーゼ II による転写を促進させる。

(日経サイエンス 1995 年 4 月号を参考で作図)

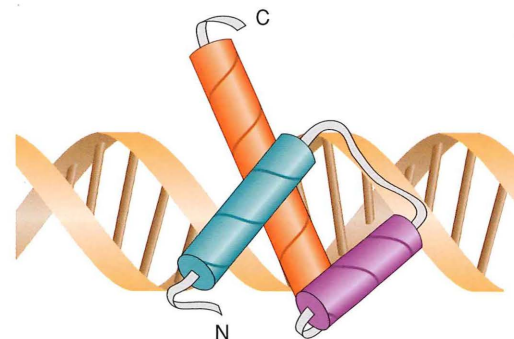
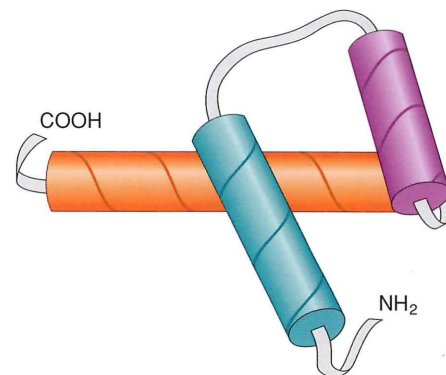


④ ヘリックス ターンヘリックス (helix-turn-helix)

構造内に3つの α ヘリックス領域があり、短いターンによって連結した構造をもつ(上図)。C末端側のヘリックス部分がDNAのらせん構造の大きい溝に適合する(下図)。

ショウジョウバエの体節形成や器官発生を支配するホメオ遺伝子がコードするタンパク質を解析したところ、よく保存された約60アミノ酸領域が明らかになり、ホメオドメインあるいはホメオ box と呼ぶ。このホメオドメインがヘリックスターンヘリックス構造モチーフをもつことが判明している。ヘリックスターンヘリックスは酵母からヒトに至るまで進化を通じて高度に保存されており、遺伝子発現における転写調節の基本的な役割をもつと考えられている。

転写調節因子の構造モチーフ



DNA への結合様式

④ ジンクフィンガー (zinc finger)

亜鉛を介して α ヘリックスと β シートが結合した構造をもつ。亜鉛は Cys-Cys-His-His に結合しており、これを Cys₂-His₂ ジンクフィンガーと呼ぶ(上図)。

3つのジンクフィンガードメインのそれぞれのN末端がDNA鎖の大きい溝に入る(下図)。

Cys₂-Cys₂ ジンクフィンガー構造は、真核細胞のステロイドホルモン、活性型ビタミンD₃、レチノイン酸、甲状腺ホルモンの核内受容体ファミリーに見出されている。

⑤ ロイシンジッパー (leucine zipper)

単量体の α ヘリックスの両親媒性らせん領域に疎水性のロイシン側鎖が突出しており、その相互作用によって二量体を形成する(上図)。

N末端付近の塩基性アミノ酸に富む領域がDNAへの結合に働く(下図)。

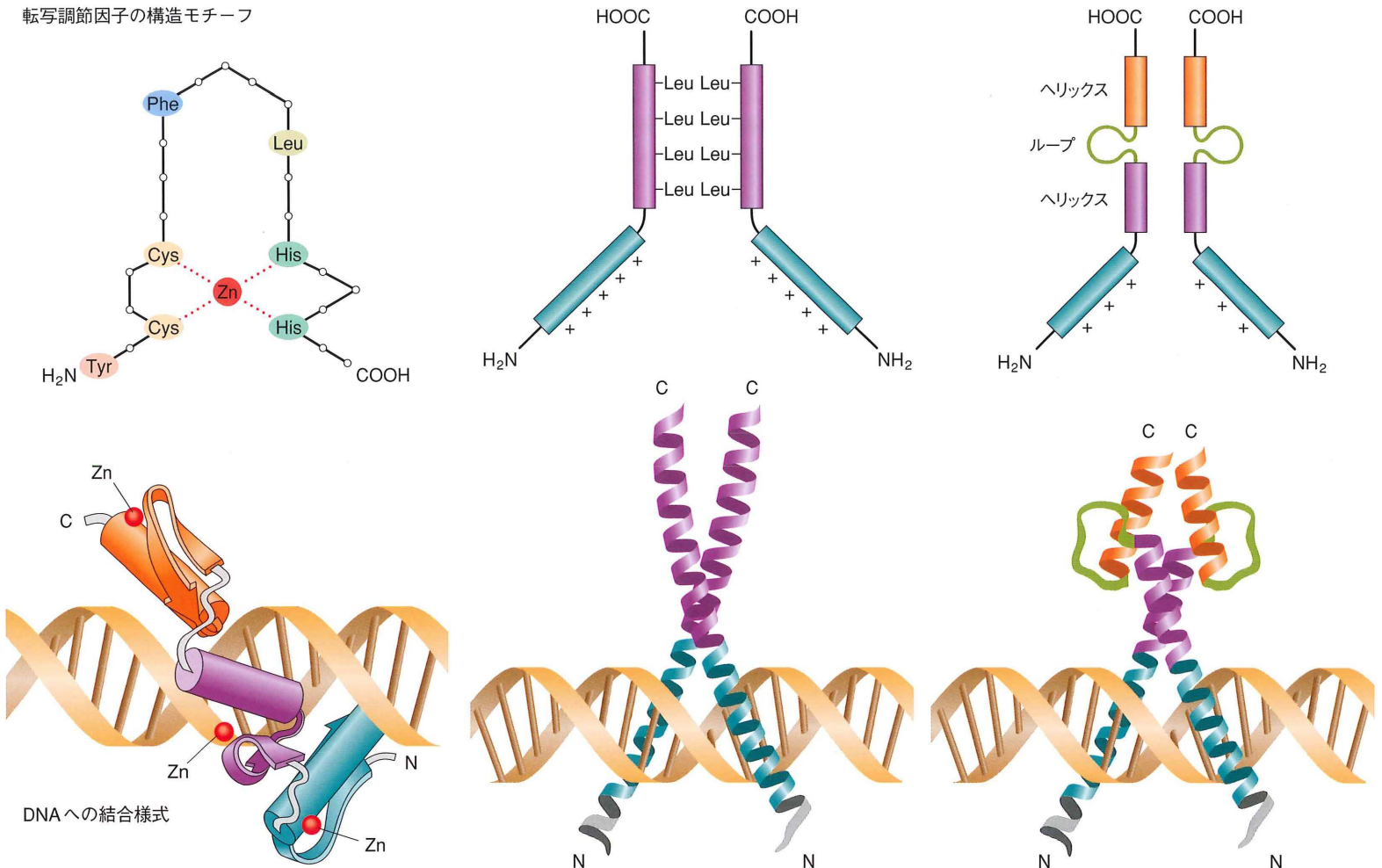
単量体が同一のホモ二量体と、単量体異なるヘテロ二量体がある。

⑥ ヘリックスループヘリックス (helix-loop-helix)

ループによってつながれた両親媒性の2つの α ヘリックス領域により構成されている。らせん領域は二量体の形成に必要である(上図)。

N末端付近の塩基性アミノ酸領域がDNAへの結合に必要であり(下図)、基本的にはロイシンジッパー構造に類似している。

転写調節因子の構造モチーフ



遺伝情報の 発現と伝達

遺伝子の発現

8 翻訳

転写によって伝達された mRNA の塩基配列にしたがって翻訳し、tRNA が運搬してきたアミノ酸を重合させることによりタンパク質が合成される。

1 mRNA のトリプレットコード

構造タンパク質、輸送・貯蔵タンパク質、収縮性タンパク質、酵素、ペプチドホルモン、抗体など多彩な機能をもつ種々のタンパク質の特性は、それぞれのアミノ酸配列、アミノ酸組成、構成アミノ酸数によって発揮される。タンパク質を構成しているアミノ酸は20種類あるが、A、T、G、Cの4種の暗号によって20種類のアミノ酸を決定するわけであるから、当然1塩基 ($4^1 = 4$) あるいは2塩基 ($4^2 = 16$) の組み合わせでは規定できず、3塩基 ($4^3 = 64$) の組み合わせが必要である。この mRNA 鎖に存在する3塩基の配列をコドン (codon) と呼び、20アミノ酸に対応するコドンの遺伝暗号表をトリプレットコード (triplet code) という。タンパク質を合成する遺伝情報すべてが転写された mRNA に存在するのでなく、配列の中にはどこで開始しどこで停止させるかのトリプレットコードが存在する。

遺伝暗号はすべての生物で共通していることから、同一の祖先から進化してきたと考えられている。しかし、例外としてミトコンドリアの遺伝暗号は少し異っており、太古に別種の生物が真核細胞に寄生したと考えられている。また、受精時に精子の頭部が切り離されるため、ミトコンドリアは卵子に入らない。したがって、ミトコンドリア DNA の変異解析によって人類の祖先を調べることができ、人類のアフリカ発生源説が有力である。

④ 合成 mRNA によるコドンの解読

1961年に Nirenberg らは、細菌の無細胞抽出液 (mRNA 以外の tRNA、リボソーム、アミノ酸、高エネルギー化合物の ATP、GTP を含む) に mRNA のモデルとしてポリウリジン (UUUUUU……) を加えると、フェニルアラニンの重合体が合成されることを証明した。この発見に始まり、1965年までにすべてのトリプレットコードが決定された。

細菌の 無細胞抽出液	合成 mRNA	合成ペプチド
+	UUU UUU UUU	→ Phe-Phe-Phe
+	AAA AAA AAA	→ Lys-Lys-Lys
+	CCC CCC CCC	→ Pro-Pro-Pro
+	GGG GGG GGG	→ Gly-Gly-Gly

④ トリプレットコード

開始コドン (initiation codon) は AUG であり (まれに GUG)、終止コドン (stop codon または nonsense codon) は UAA、UAG、UGA である。

1文字目 (5'末端)	2文字目	3文字目 (3'末端)
U	U C A G	U C A G
UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr
UUC	UCC	UAC
UUA Leu	UCA	UAA 終止
UUG	UCG	UAG 終止
		UGA 終止
		UGG Trp
C	CUU Leu	CCU Pro
CUC	CCC	CAU His
CUA	CCA	CAC
CUG	CCG	CAA Gln
		CAG
A	AUU Ile	ACU Thr
AUC	ACC	AAU Asn
AUA	ACA	AAC
AUG Met	ACG	AAA Lys
		AAG
		AGU Ser
		AGC
		AGA Arg
		AGG
G	GUU Val	GCU Ala
GUC	GCC	GAU Asp
GUA	GCA	GAC
GUG	GCG	GAA Glu
		GAG
		GGU Gly
		GGC
		GGA
		GGG

④ ミトコンドリアのトリプレットコード

コドン	標準的な暗号	ミトコンドリアでの暗号
UGA	終止	Trp
UGG	Trp	Trp
AUA	Ile	Met
AUG	Met	Met
AGA	Arg	終止
AGG	Arg	終止

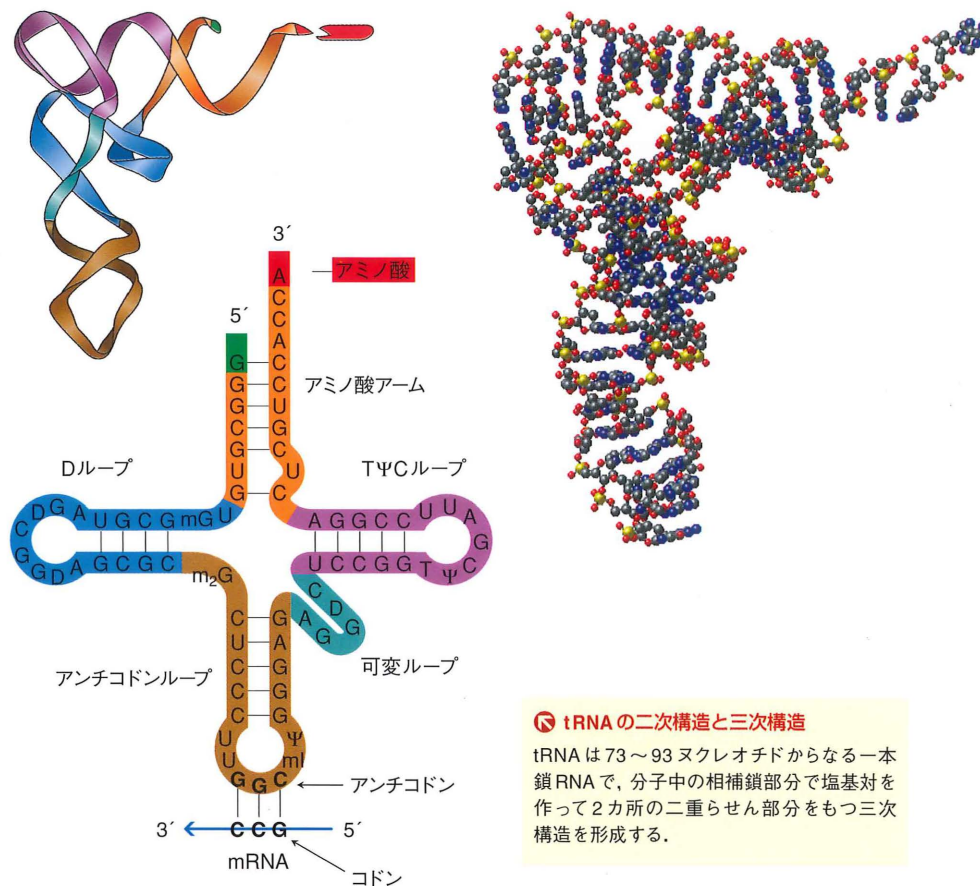
2 tRNAのアンチコドン

mRNA自身は直接アミノ酸を選択することはできず、タンパク合成にはtRNAの仲介が必要である。tRNAの役割は、① mRNAのコドンの識別と② アミノ酸の運搬である。mRNAのコドンと相補的な塩基対を形成するtRNAの3塩基部分をアンチコドン(anti-codon)という。tRNAのアンチコドンは、mRNAのコドンと塩基対をつくることで翻訳を行う。

3 タンパク質の合成工場——リボソーム

1本のmRNAには多数のリボソームが結合してタンパク質合成の効率を高めている。これをポリリソーム(polysome)と呼ぶ。リボソームは粗面小胞体に存在するものと、細胞質に遊離した状態のものがある。膜結合性あるいは分泌性のタンパク質は小胞体膜を通過するためのシグナルペプチド(signal peptide)をもち、小胞体に結合しているリボソームで合成される。細胞質に局在するタンパク質は遊離リボソームで合成される。

原核細胞と真核細胞のリボソームの構造と機能は類似しており、大小のサブユニットからなる。大サブユニットはペプチド合成を触媒し、そのrRNAには生物種間で相同性がみられる。小サブユニットはmRNAおよびtRNAの結合に働き、そのrRNAは生物種によって異なる。



tRNAの二次構造と三次構造

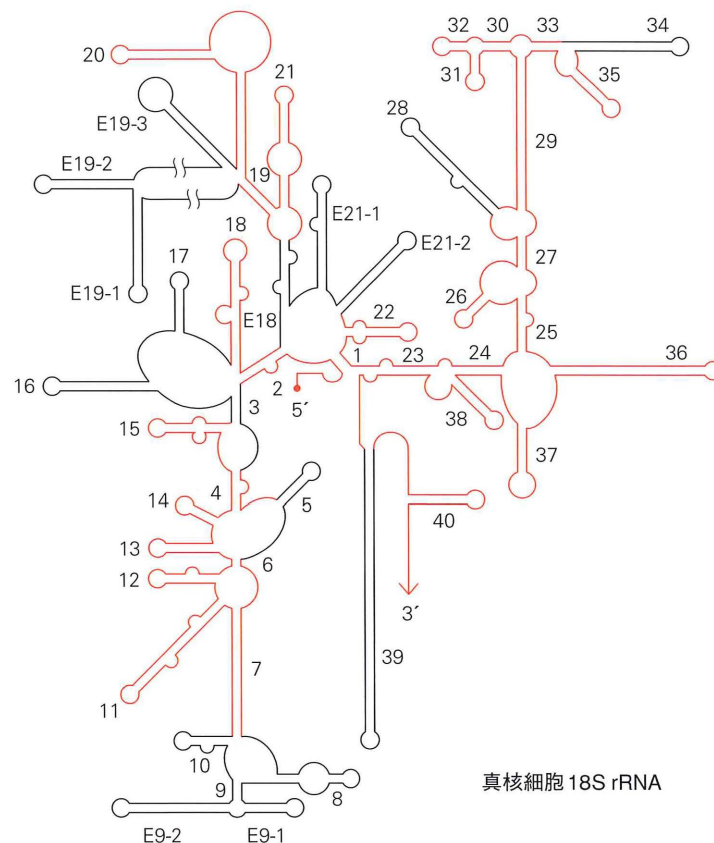
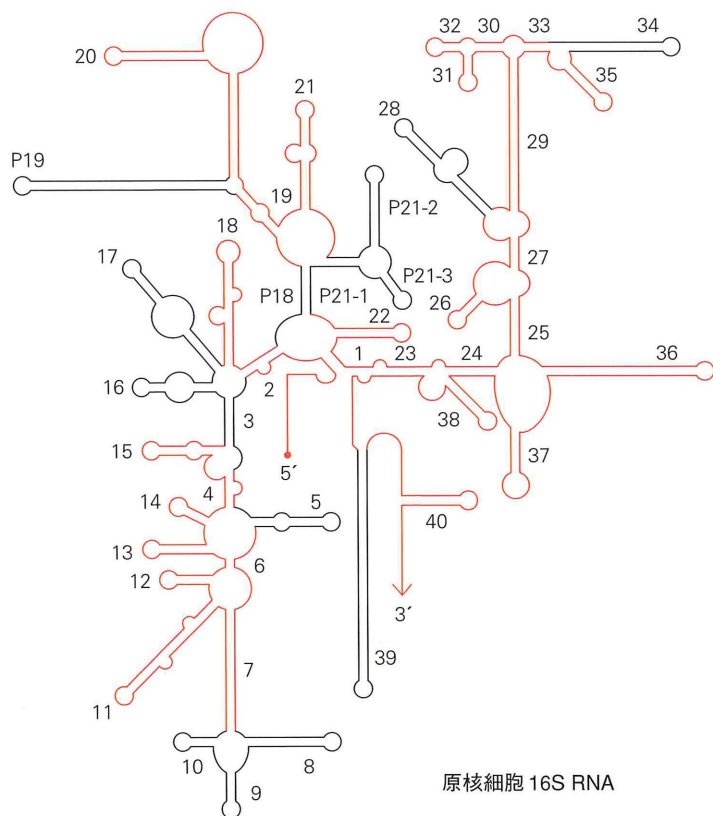
tRNAは73～93ヌクレオチドからなる一本鎖RNAで、分子中の相補鎖部分で塩基対を作って2カ所の二重らせん部分をもつ三次構造を形成する。

④ 原核細胞(大腸菌)のリボソームの構成成分

	リボソーム	小サブユニット	大サブユニット
沈降定数	70S	30S	50S
質量(kDa)	2520	930	1590
RNA 主要		16S, 1452塩基	23S, 2904塩基
RNA 少量			5S, 120塩基
RNA質量(kDa)	1664	560	1104
質量比	66%	60%	70%
タンパク質種		21種	32種
タンパク質量(kDa)	857	370	487
質量比	34%	40%	30%

④ 真核細胞(ラット肝細胞質)のリボソームの構成成分

	リボソーム	小サブユニット	大サブユニット
沈降定数	80S	40S	60S
質量(kDa)	4220	1400	2820
RNA 主要		18S, 1874塩基	28S, 4718塩基
RNA 少量			5.8S, 160塩基
RNA質量(kDa)	2520	700	1820
質量比	60%	50%	65%
タンパク質種		33種	49種
タンパク質量(kDa)	1700	700	1000
質量比	40%	50%	35%



④ 原核細胞 16S RNA と真核細胞 18S rRNA の二次構造

原核細胞 16S RNA と真核細胞 18S rRNA の構造はよく類似しており、各ステムループには数字がつけられている。赤線部分は各生物でよく保存されている部分を示す。P (prokaryote) は原核細胞にのみ、E (eukaryote) は真核細胞にのみ存在するステムループを示す。

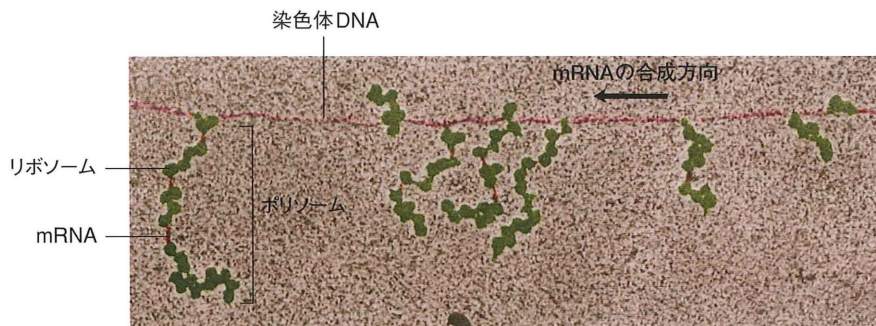
⑤ mRNA と 16S rRNA の塩基対合

細菌では、mRNA の翻訳開始信号 AUG の上流約 10 塩基を中心に、プリン塩基に富む 3～10 塩基からなるリボソーム結合部位が存在し、これを SD 配列 (Shine-Dalgarno sequence) という。30S リボソームの 16S rRNA の 3' 末端付近には、mRNA の SD 配列に相補的な配列が存在し、塩基対合を形成することによってリボソームが開始コドンを選択できる。

真核細胞の mRNA には SD 配列のようなコンセンサスな配列は見出されておらず、キャップ構造と開始コドン AUG で 40S リボソームに結合すると想像されている。

	SD 配列 (リボソーム結合部位)	開始コドン
<i>araB</i>	UUUGGAU GGAG UGAAACGAUGGCGAUU	
<i>galE</i>	AGCCUAAU GGAG CGAAUUAUGAGAGUU	
<i>LacI</i>	CAAUUCAGGGUGGUGAUUGUGAAACCA	
<i>LacZ</i>	UUCACACAGGA AA CAGCUAUGACCAUG	
リボソーム S12	AAAACCAGGAGCUAUUUAAUGGCAACA	
リボソーム L10	CUACCAGGAGCAAAGCUAAUGGCUUUA	
<i>trpE</i>	CAAAAUUAGAGAAUAACA AG CAAACA	

16S rRNA の 3' 末端 3'—AUUCCUCCACUAG—5'

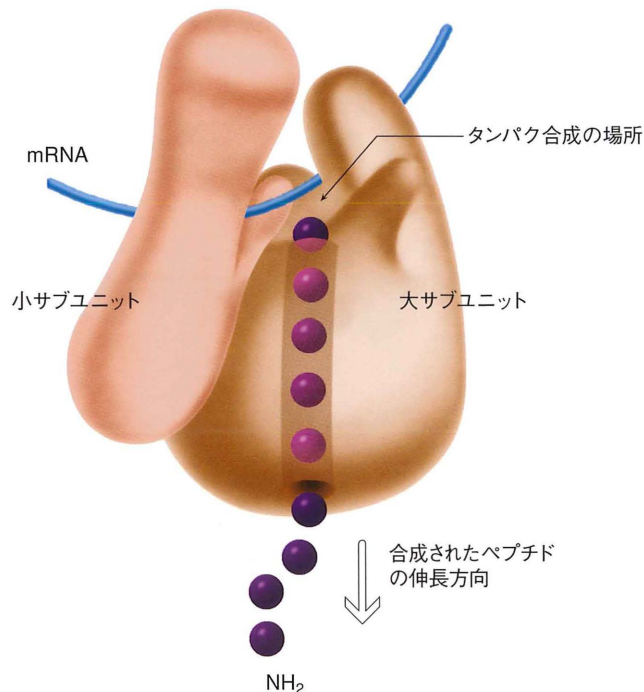


④ 大腸菌の転写と翻訳 (電顕写真)

センス染色体DNAにRNAポリメラーゼが結合してmRNAを合成しながら、同時にリボソームがmRNAに結合してポリソームを形成しタンパク合成を行っている。

⑤ リボソームの立体モデル

リボソームの大小サブユニットの間にmRNA (5'→3'方向) が通り抜けていき、tRNAが大小サブユニットの間に形成されるポケットに保持される。ペプチドはN末端→C末端に向かって合成される。



4 アミノ酸の活性化

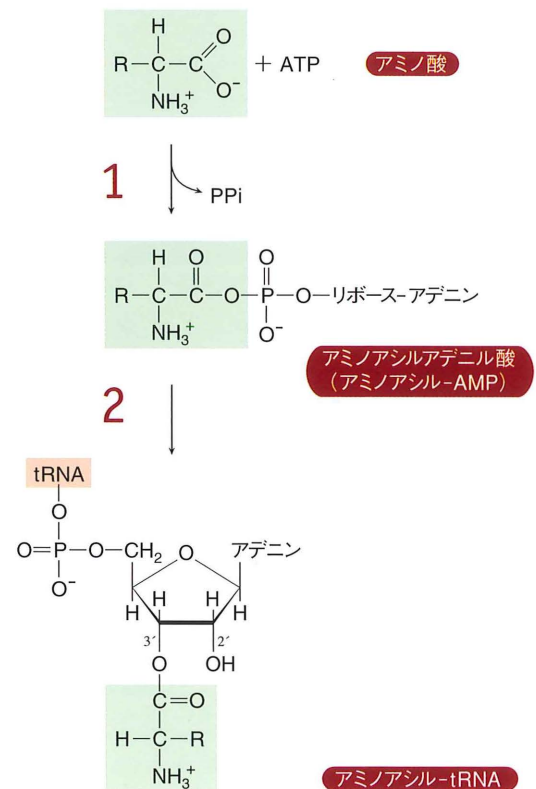
20種類のアミノ酸はそれぞれ特異的なアンチコドンをもつtRNAに結合する。この反応を触媒するアミノアシルtRNA合成酵素 (aminoacyl-tRNA synthetase) は各アミノ酸-tRNAに特異的な20種類が存在する。

① アミノ酸の活性化

アミノ酸のペプチド結合に必要なエネルギーは、アミノ酸にATPの高エネルギーが与えられたアミノアシルtRNAの形で供給される。アミノアシルtRNA合成酵素が、2段階の反応によってアミノアシルtRNAをつくる。

1 ATPの加水分解を伴って、アミノ酸は高エネルギー結合をもつアデニル化アミノ酸となる。

2 アミノ酸のカルボキシル基がtRNAヌクレオチドのリボース3'末端のOHとエステル結合する。このエステル結合は加水分解により自由エネルギーを放出する。



5 タンパク合成

タンパク合成は、開始 (initiation)、伸長 (elongation)、停止 (termination) の3つの過程により行われる。それぞれのプロセスには、開始因子 (initiation factor ; IF)、伸長因子 (elongation factor ; EF)、遊離因子 (release factor ; RF) およびGTPが必要である。基本的には原核生物と真核生物のタンパク合成過程は共通しているが、原核生物の大腸菌を例に説明する。

① 翻訳開始 タンパク合成は、mRNA、ホルミルメチオニル-tRNA (fMet-tRNA)、リボソームからなるタンパク合成開始複合体の形成によって開始する。この形成には複数の開始因子 (IF-1, IF-2, IF-3) が必要である。

② 翻訳伸長 ポリペプチド鎖の伸長は、mRNAのコドンに相補的なアンチコドンをもつアミノアシルtRNAが運搬してくる活性化アミノ酸をペプチド結合させてN末端→C末端の方向に伸長する。この反応には複数の伸長因子 (EF-Tu, TF-Ts, TF-G) が必要である。

③ 翻訳終止 mRNAの64種類のコドンのうち3種類のコドン (UAA, UAG, UGA) は終止コドンとして働き、翻訳過程を終了させる。終止反応には遊離因子 (終結因子 termination factor とともいう) RF-1, RF-2, RF-3が必要である。

タンパク合成における原核生物と真核生物の違い

	原核生物	真核生物
開始アミノアシルtRNA	fMet-tRNA	Met-tRNA*
開始因子	IF-1 IF-2 IF-3	eIF-n**
伸長因子	EF-Tu EF-Ts EF-G	eEF-1 α eEF-1 β eEF-2
終止因子	RF-1 RF-2 RF-3	eRF***

* 真核細胞の開始コドンと結合するのはホルミル化されていないMet-tRNAである。

** 真核細胞の開始因子は複雑で、種によっては10種類を超える。eIF-3は40SサブユニットとmRNAの結合に働き、eIF-4EはmRNAの5'キャップ結合タンパクであることが知られている。

*** 真核細胞の終止因子はeRFの1種類が見つかった。

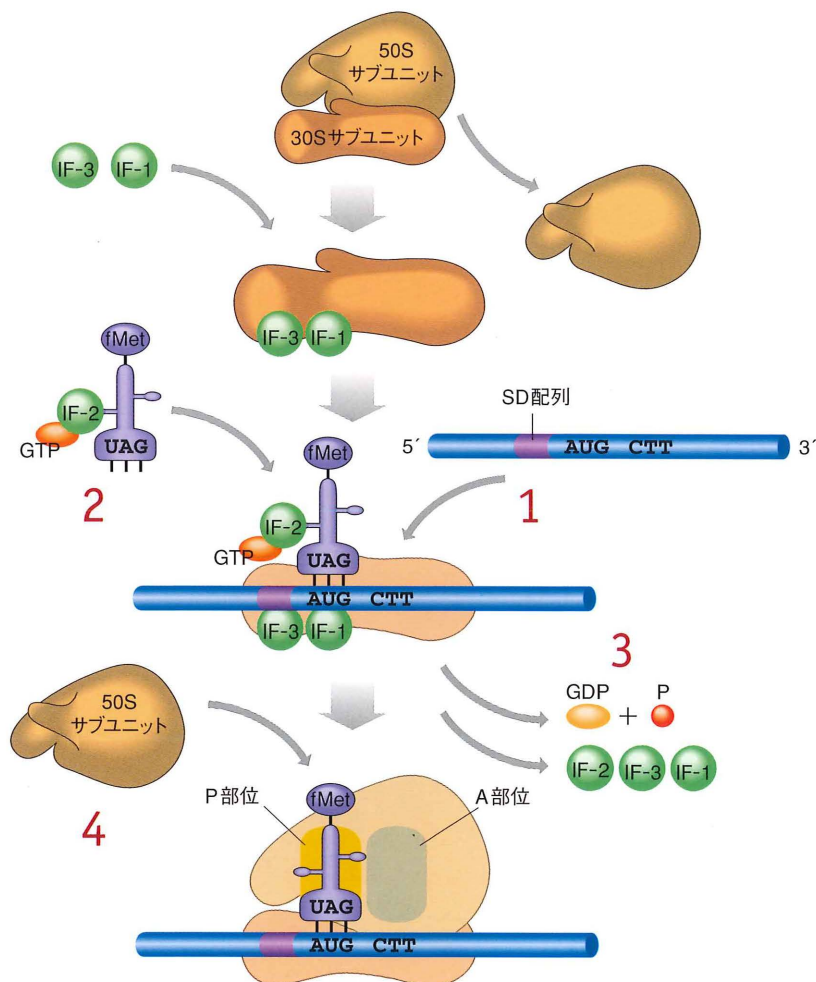
タンパク合成の開始

1 30Sリボソームの16S rRNAに、mRNAのSD配列が結合する。

2 30Sリボソーム上のmRNAのAUG開始コドンにfMet-tRNAが結合し、前開始複合体をつくる (fMet-tRNAは、N-ホルミルテトラヒドロ葉酸を供与体にMet-tRNAがホルミル化されてつくられる)。この反応で、IF-3は不活性リボソームから30Sサブユニットを遊離させ、mRNAを結合させる。GTPと結合したIF-2が、fMet-tRNAにGTPを結合させる。IF-1は、IF-3とIF-2の働きを補助する。

3 IF-2に結合しているGTPが加水分解されてIF-3、IF-2、IF-1が30Sサブユニットから遊離する。

4 50Sサブユニットが結合して70S開始複合体を形成する。この開始複合体内には2つのtRNA結合部位、アミノアシル部位 (A部位) とペプチジル部位 (P部位) が存在し、P部位にmRNAの開始コドンAUGとfMet-tRNAが結合している。



タンパク合成の伸長

1 リボソームのP部位にmRNAの開始コドンAUGとfMet-tRNAが結合しており、次のコドンがUGGの場合、Trp-tRNA(トリプトファンtRNA)が選ばれ、UGGコドンにTrp-tRNAのアンチコドンが結合する。

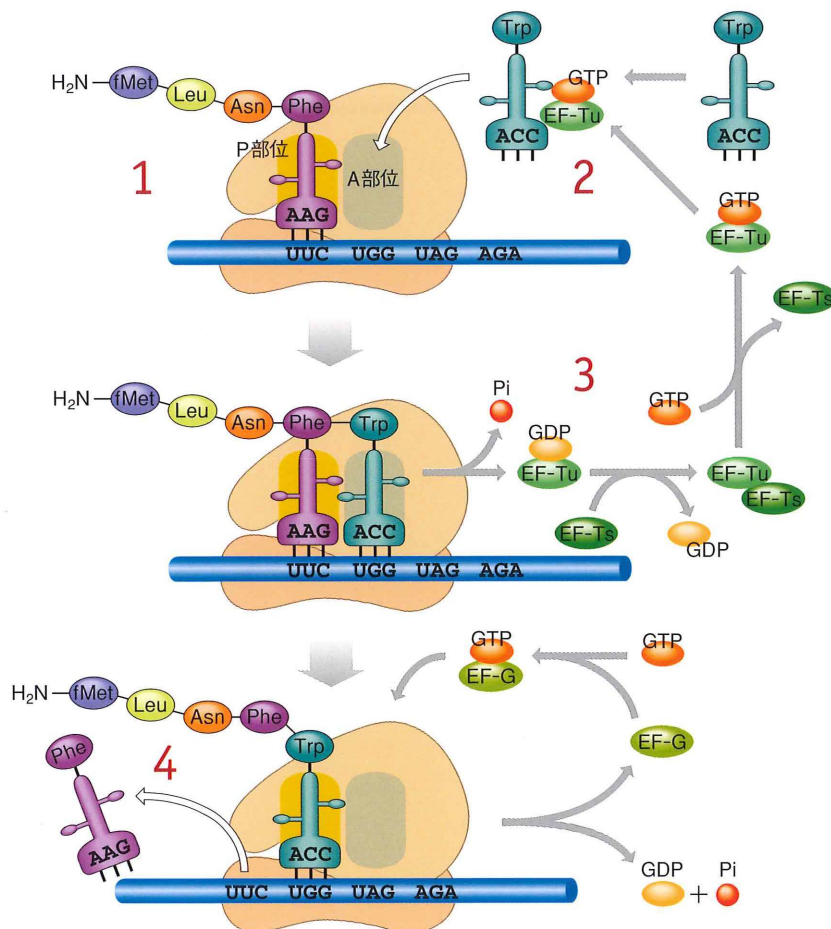
2 Trp-tRNAがEF-Tu, GTPと結合して複合体を形成し、tRNAのTΨCループ部分を介して70SリボソームのA部位に結合していく。

3 EF-TuのGTP加水分解酵素活性が働いてGTP → GDP + Pi反応が起こると、EF-Tuが遊離し、次いでリボソームのペプチルトランスフェラーゼが作用してP部位のPheとA部位のTrpがペプチド結合を形成する。EF-TsはEF-Tuを再活性化し、

次のアミノアシルtRNAのA部位への結合過程が繰り返される。

4 EF-Gがリボソームに結合し、GTPを加水分解して発生するエネルギーによりfMetがtRNAから切り離され、tRNAがP部位から離れる。それとともにA部位のペプチジルtRNAがP部位に移り、mRNAの1コドン、すなわち3塩基分が移動する。この段階をトランスロケーション(translocation)と呼ぶ。

こうして伸長過程の1サイクルが終了する。空いたA部位に次のmRNAが指定するコドンによって選ばれたアミノアシルtRNAが結合し、伸長サイクルを繰り返す。



タンパク合成の終止

1 リボソームのA部位にmRNAの終止コドンが到達すると、これらのコドンに対するアンチコドンをもつtRNAはなく、終結因子(RF)が結合する。RF-1はUAA, UAGを、RF-2はUAA, UGAを認識する。RF-3はGTPと結合し、RF-1, RF-2の結合を促進する。

2 終結因子はGTP存在下にP部位にある最後のペプチジルtRNAからペプチドを遊離させる。

3 次いでtRNAが離れ、続いてmRNAもリボソームから離れ、リボソームは大小サブユニットに解離し、新規のタンパク合成サイクルに使われる。

