

Essential
genetics 3

分子遺伝学
の基礎知識

天使病院
臨床遺伝診療室
外木秀文

- 1. DNAは遺伝情報の担体**
- 2. DNAの構造**
- 3. DNAの複製**
- 4. 遺伝子の構造と発現**
- 5. DNAの変異と個人差**

分子遺伝学の基礎知識として、DNAに関する基本的な生物学的、生化学的な解説を行い、遺伝子の構造とその機能の発現ならびに多様性について知識をまとめました。

1 DNAは遺伝情報の担体

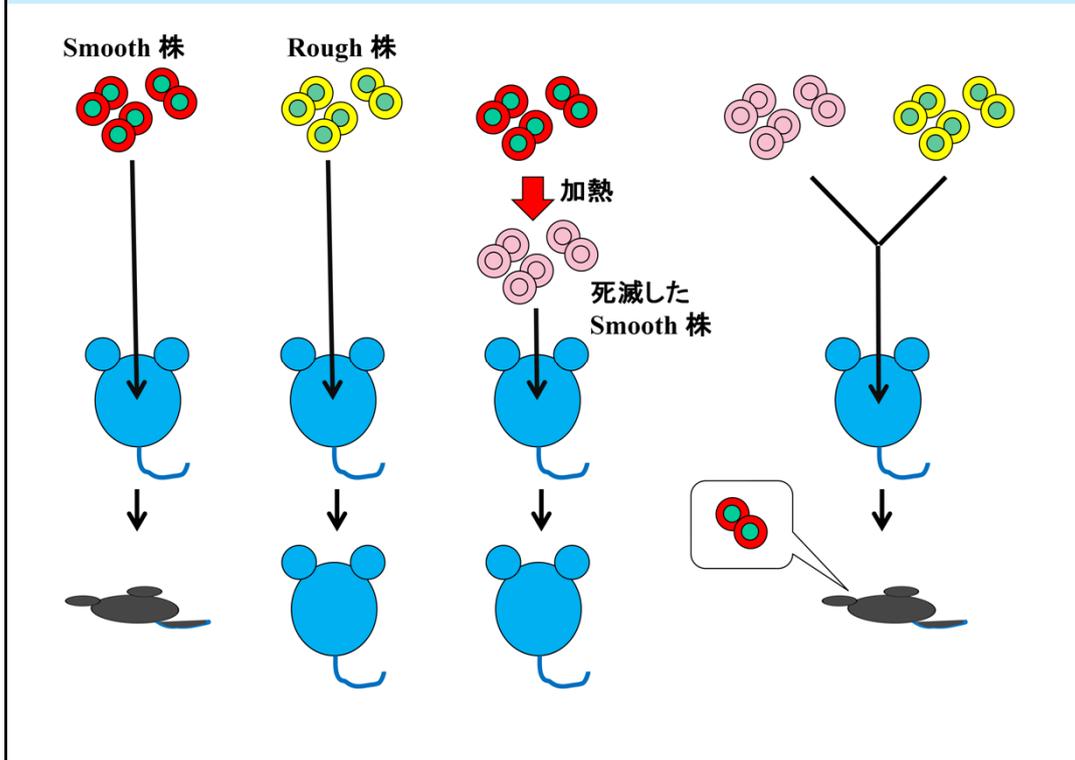
- 1869年 Miescher: DNAの発見
- 1928年 Griffithの観察: 肺炎球菌smooth株, rough株のマウス致死性の観察.
- 1944年 Avery, MacLeod, McCarty: 形質転換はDNAによるものである.
- 1952年 HersheyとChaseのファージを用いた実験: DNAのみが遺伝情報を伝達する.

1 DNAは遺伝情報の担体

DNAすなわちdeoxyribonucleic acidが細胞内の物質として知られたのは19世紀の事です, これがいわゆる遺伝子を形作り, 遺伝子の本体であることが証明されたのは20世紀の半ばの事でした.

それを示した歴史的に重要な3つの実験のうち, まずGriffithの実験を紹介しましょう.

Griffithの実験：肺炎球菌の形質転換の観察



Griffithの実験：肺炎球菌の形質転換の観察

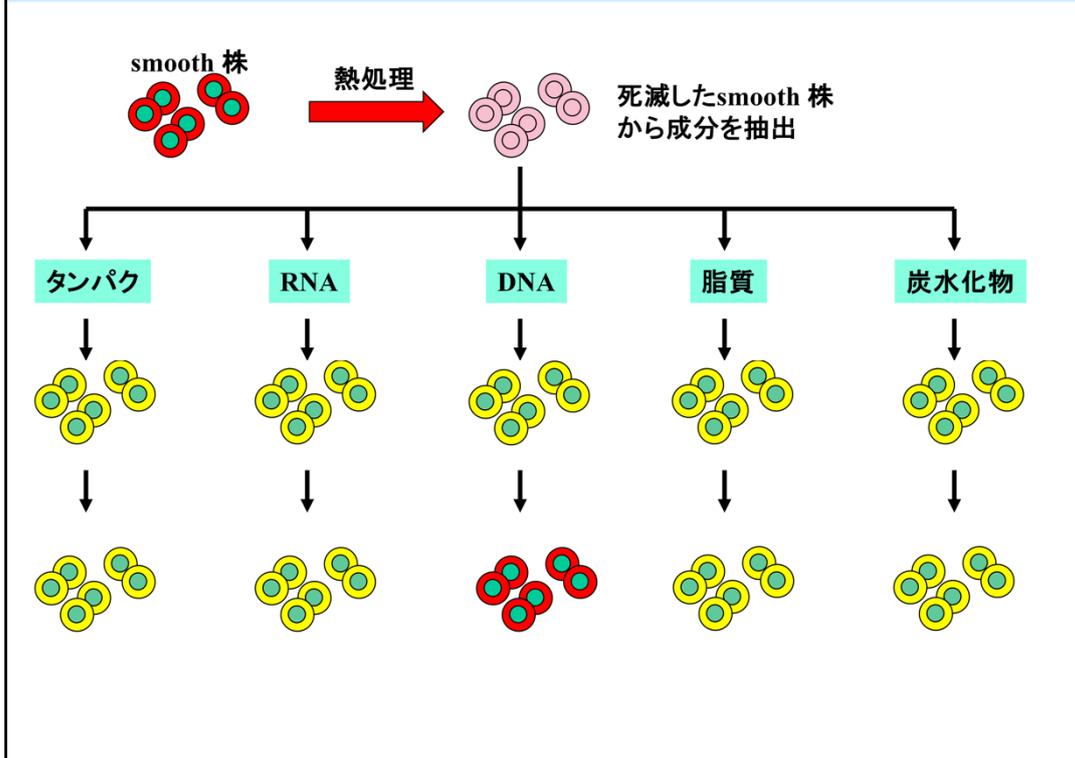
DNAが遺伝情報の担体であることを示す最初の重要な観察はGriffithが行ったものでした。

肺炎球菌のうち表面がつるつる(smooth)のものは病原性が強く肺炎を起こします。そのsmooth株(S strain)を接種されたマウスは肺炎を起こし死亡します。一方、表面がざらざらなもの(rough株: R strain)は病原性がなく接種したマウスには異変がありません。

1928年Griffithはsmooth 株を加熱処理し死滅させたものをマウスに接種したところマウスは肺炎にはならず異変がなかったのに、この熱処理したsmooth株と生きているrough株を混ぜて接種したところマウスは肺炎になって死亡するという現象を観察しました。さらに死亡したマウスからは病原性のあるsmooth株が検出されたのです。

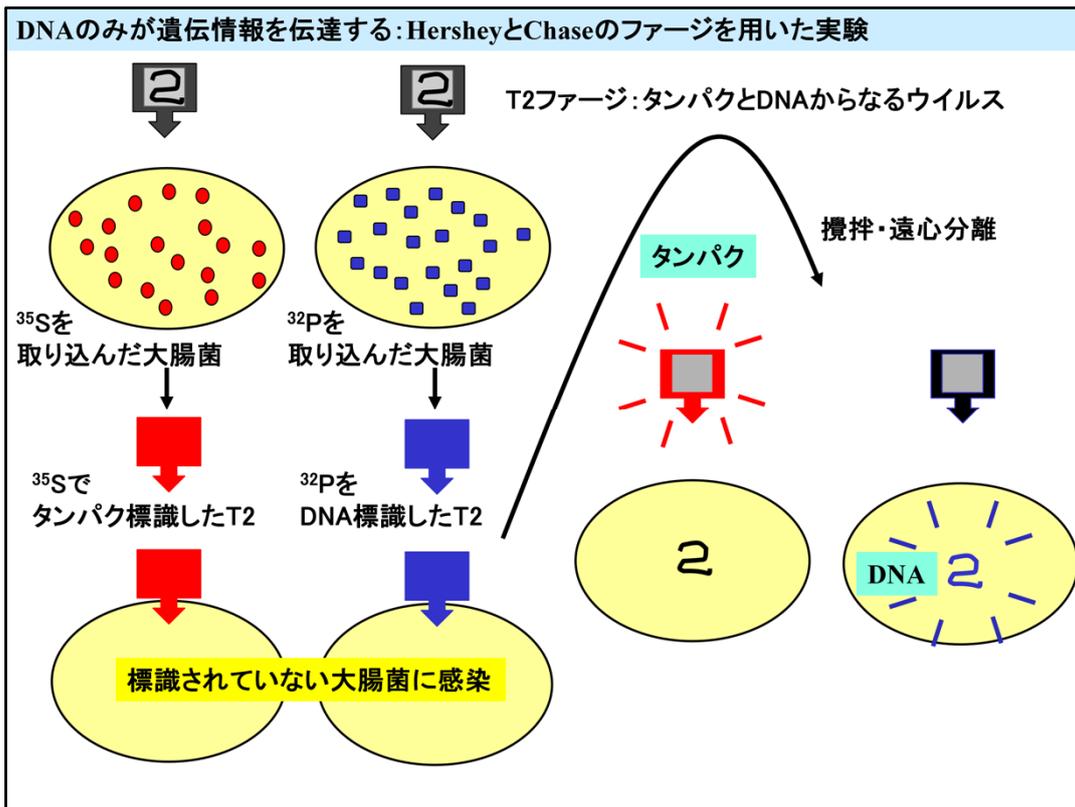
この観察はsmooth株の成分によるrough株の形質転換 transformationを示したのですが、発表当時は説明することが不可能でした。

形質転換はDNAによっておこる: Avery, MacLeod, McCarty の実験



形質転換はDNAによっておこる: Avery, MacLeod, McCarty の実験

その後1940年代になってAvery, MacLeod, McCartyらは、肺炎球菌の形質転換はsmooth株の菌を構成する物質によって引き起こされると考え、それを証明するための実験を行いました。彼らは死滅したsmooth株から、菌体成分をRNA, DNA, タンパク, 脂質, 炭水化物に分けて抽出し、それぞれでrough株の形質転換を試みました。結果はDNAのみがsmooth株への形質転換をもたらしました。すなわち遺伝情報つまり細胞の性質を規定する情報はDNAにあるということを示唆したのです。



DNAのみが遺伝情報を伝達する: HersheyとChaseのファージを用いた実験

1952年HersheyとChaseによって、画期的な実験が行われました。T2ファージは大腸菌に感染し、菌内で増殖し溶菌させますが、ファージそのものはタンパク質とDNAから構成されていることが知られていました。放射性同位元素 ^{35}S を含む培地で培養した大腸菌にT2ファージを感染させると ^{35}S でタンパク質が標識されたT2ファージができます。同様に ^{32}P を含む培地で培養した大腸菌からは ^{32}P でDNAを標識したT2ファージが得られます。この両者をそれぞれ放射性同位元素で標識されていない大腸菌に感染させたのち、攪拌・遠心分離し、ウイルスの外殻と大腸菌を分離しました。それぞれの分画の放射能を測定したところ、タンパク質を標識したファージを感染させた大腸菌分画には放射線が検出されず、ウイルスの外殻を含む分画から放射線が検出されました。一方、DNAを標識したファージを感染させた大腸菌分画からは放射線が検出されましたが、外殻分画からは放射線は検出されませんでした。これにより大腸菌に侵入する遺伝物質はDNAだけで、それをもとに新たなファージが合成されることがわかりました。

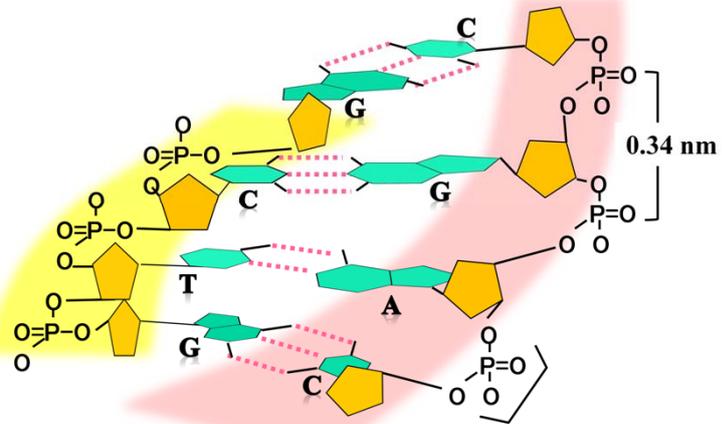
1 DNAは遺伝情報の担体 : まとめ

- Griffithの観察により, 死滅した肺炎球菌の菌体成分が他の菌の形質転換を起こすことが分かった.
- 形質転換を引き起こす物質はDNAである.
- 1952年 HersheyとChaseのファージを用いた実験により, DNAのみが遺伝情報を伝達することが証明された.

1 DNAは遺伝情報の担体

この章のまとめです.

2 DNAの構造



2 DNAの構造

DNAは基本構成要素は ①塩基 ②5炭糖の一種デオキシリボース ③リン酸 それぞれ1分子ずつが結合したヌクレオチドです。

このヌクレオチドが多数線形に結合しDNA鎖を形成します。

DNAは高等生物では相補的な2本鎖が2重らせん構造をとる巨大分子です。

ヌクレオシドとヌクレオチド

- **ヌクレオシド: 塩基と5炭糖の結合した物**
 - a. 5炭糖: リボース(RNA), デオキシリボース(DNA)
 - b. 塩基: adenine, guanine, cytosine, thymine, uracil
例えば, アデノシン(アデニン+リボース), デオキシアデノシン(アデニン+デオキシリボース)
- **ヌクレオチドの構成要素**
 - a. **ヌクレオシド**
 - b. **リン酸基**
例えば, アデノシン1リン酸(AMP), アデノシン3リン酸(ATP), デオキシチジル酸(dCTP)
- **核酸を合成するときは5位の炭素に結合したリン酸基が3位の炭素原子-水酸基との間にリン酸エステル結合を形成する.**

ヌクレオシドとヌクレオチド

では 核酸であるDNAとRNAの構成要素を具体的にみていきましょう..

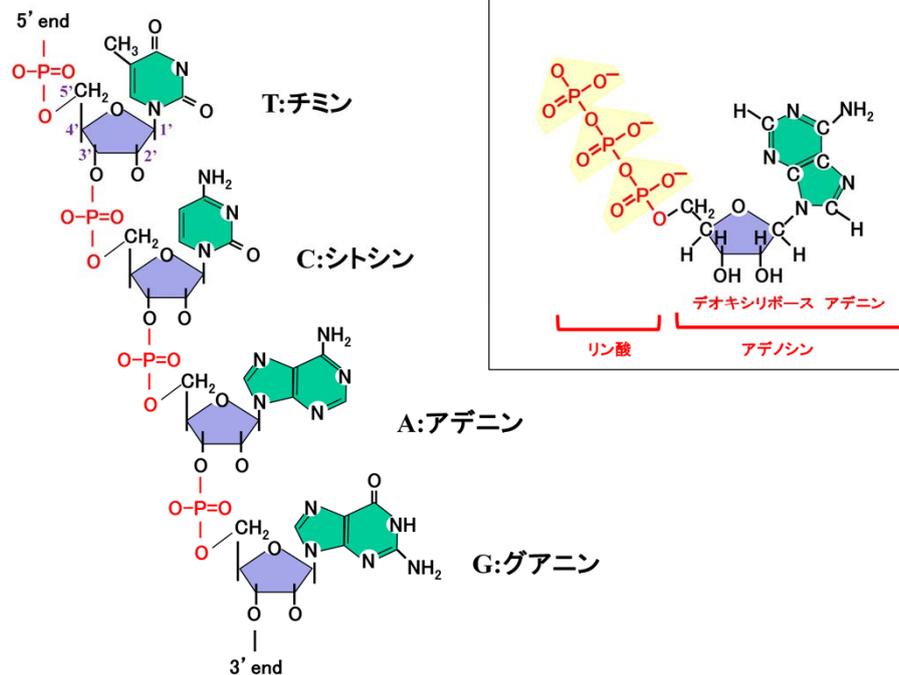
DNAもRNAも, 5炭糖, 塩基, リン酸が構成要素です.

DNAでは5炭糖がデオキシリボース, RNAではリボースとわずかに違います.

また, 4種類の塩基のうちRNAではチミンの代わりにウラシルが結合します.

塩基と5炭糖が結合したものをヌクレオシドといい, これにリン酸が結合するとヌクレオチドといいます.

DNAとヌクレオチド



DNAとヌクレオチド

ヌクレオチドが線形に多数結合しDNA鎖を作り上げる様子です。

5炭糖デオキシリボースの5位の炭素に結合したリン酸が、次のヌクレオチドのデオキシリボース3位の炭素原子に結合したヒドロキシ(-OH)基との間にリン酸エステル結合をします。

枠内はヌクレオチドの1つとしてアデノシン3リン酸を例示しました。

DNA2本鎖の形成

- ・ DNAは二本の長大な分子が塩基対で結合する二本鎖の二重らせん構造をとる.
- ・ 相対する塩基は互いに相補的なので反対鎖を相補鎖とも呼ぶ. 相補鎖の方向(5' →3')は互いに逆になる.
- ・ 塩基はアデニンとチミンが1位のNと6位のアミノ基, 3位の水素と4位のカルボキシル基の間の2カ所で水素結合を形成, グアニンとシトシンが2位のアミノ基, 1位の水素, 6位のケト基, と2位のケト基, 3位の水素, 4位のアミノ基間に3カ所で水素結合を形成する.
- ・ 2塩基間の距離は0.20-0.29 nmである.

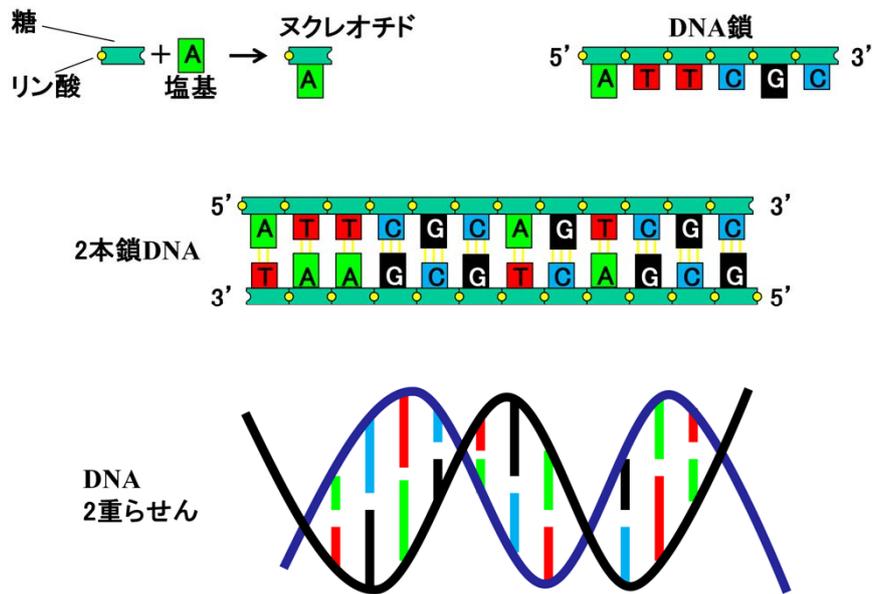
DNA2本鎖の形成

DNA鎖2本が互いにその塩基間の水素結合により塩基対を形成するといわゆる二重らせん構造をとる二本鎖DNAとなります.

DNA鎖はヌクレオチドを結合するリン酸がデオキシリボースの5番目の炭素と結合する側(5'側)から3番目の炭素と結合する側(3'側)への方向があります. 2本鎖のそれぞれの反対側のDNAを相補鎖と言いますが, 相補鎖の方向(5' → 3')は反対となります.

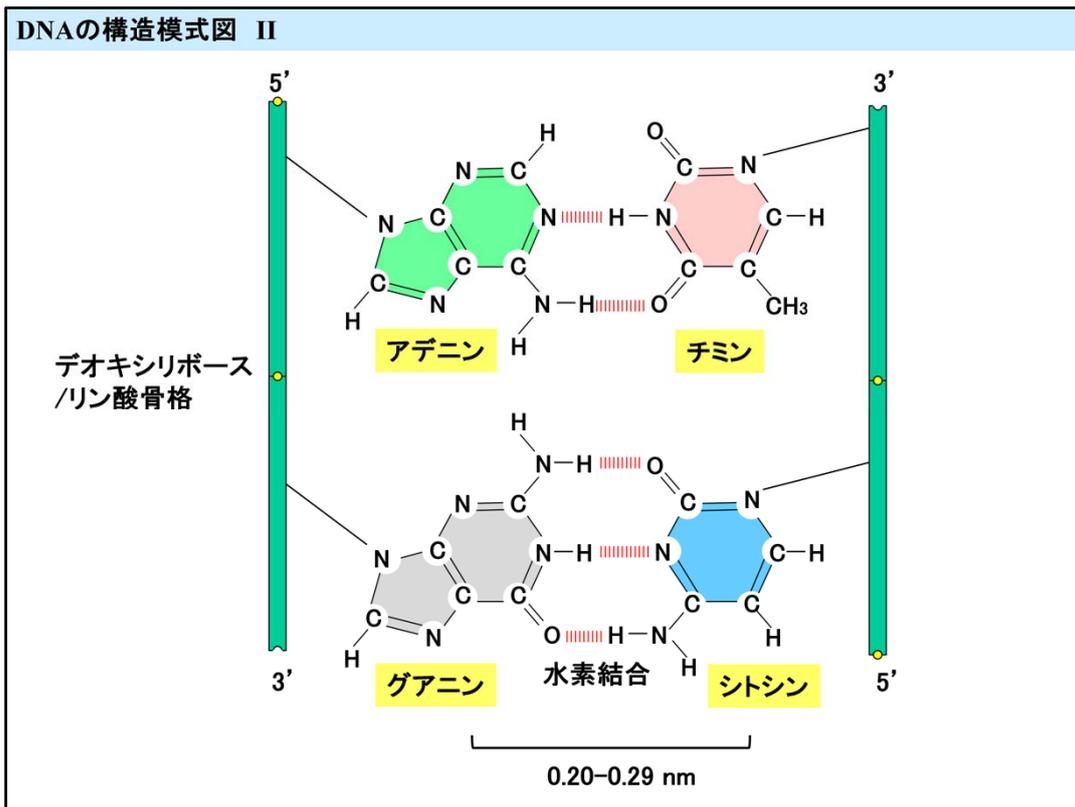
DNAの塩基はアデニン(A), チミン(T), シトシン(C), グアニン(G)の4種類のみでAとTが2か所, CとGが3か所でそれぞれ水素結合します.

DNAの構造模式図 I



DNAの構造模式図 I

これはMolecular Biology of the Cellの図でヌクレオチドの構成から2重鎖DNAの構造を模式的に表したものです.

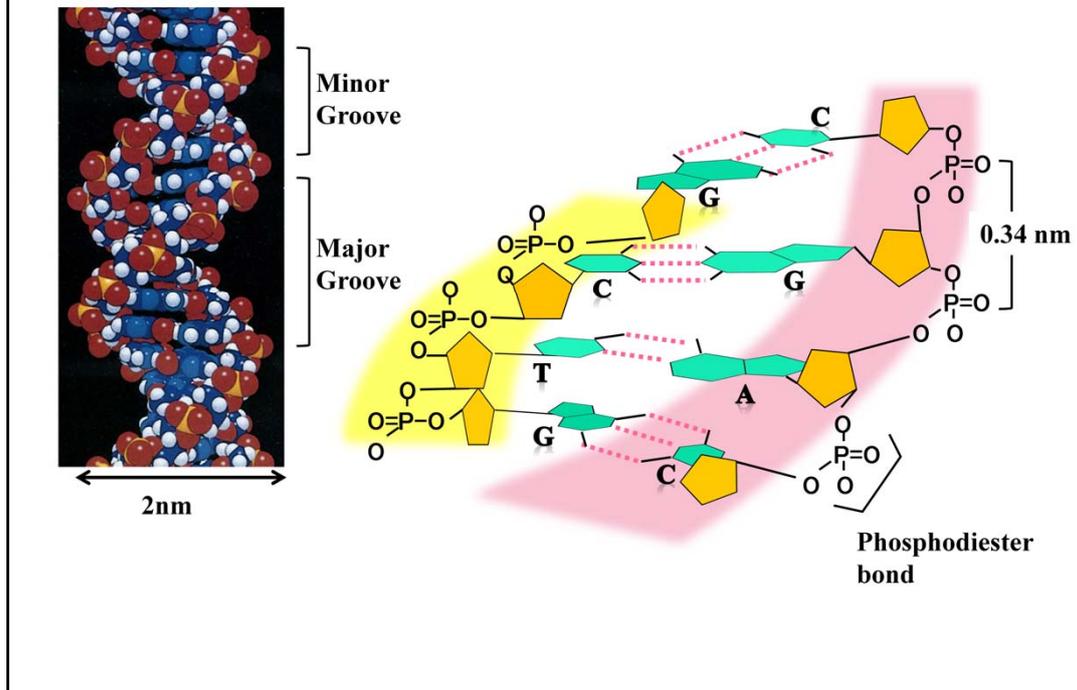


DNAの構造模式図 II

2本鎖DNAにおける塩基対形成の様子です。

アデニンはチミンと2か所の水素結合で、グアニンとシトシンは3か所の水素結合でたがいに結合します。結合エネルギーは従ってC-G結合の方が高いのです。

DNAの構造模式図 III



DNAの構造模式図 III

実際には2本鎖DNAは2重らせん構造をとっています。これを発見したのはワトソンとクリックで1953年の事でした、

DNAの二重らせん構造の模式図を示します。

標準の生理的な構造。右巻きらせんでらせん1回転で約10塩基、らせんのピッチは3.4 nm、隣接塩基同士は0.34 nm離れています。また立体構造として、らせんには2種類の溝がありmajor grooveとminor grooveと呼ばれます。

2 DNAの構造のまとめ

- ・ デオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid) の構成要素は塩基・デオキシリボース・リン酸からなるヌクレオチド。
- ・ 塩基にはアデニン・グアニン(プリン)とシトシン・チミン(ピリミジン)があり, デオキシリボースの1位の炭素に結合. 一方5位の炭素にはリン酸が結合.
- ・ 5位の炭素に結合したリン酸は, 次の糖の3位ヒドロキシ基に結合し, 長大なDNA鎖を形成する.
- ・ 高等生物で核DNAは2本鎖の二重らせん構造をとる.

2 DNAの構造

DNAの基本構成要素は ①塩基 ②5炭糖の一種デオキシリボース ③リン酸 それぞれ1分子ずつが結合したヌクレオチドです。

このヌクレオチドが多数線形に結合しDNA鎖を形成します。

DNAは高等生物では相補的な2本鎖が2重らせん構造をとる巨大分子です。

3 DNAの複製

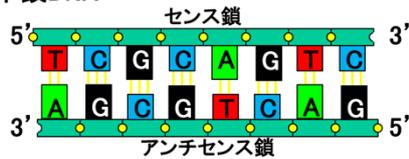


3 DNAの複製

DNAは遺伝情報すなわち塩基配列を忠実にコピーする形で複製されます。複製は細胞分裂のたびに行われ、2本鎖のそれぞれを鋳型として相補鎖が合成されるもので、半保存複製と呼ばれます。

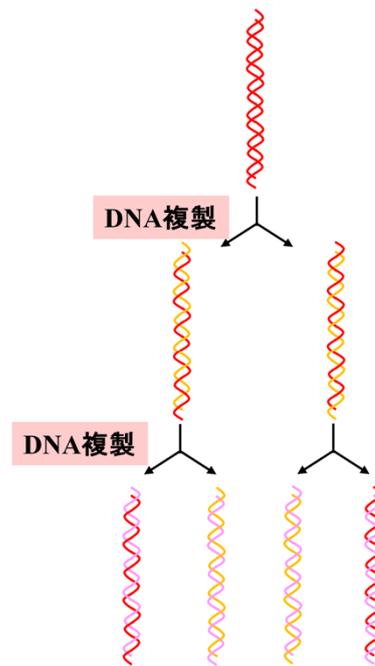
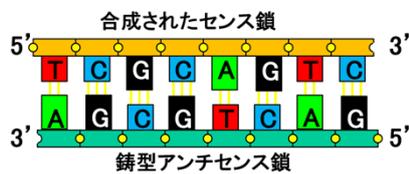
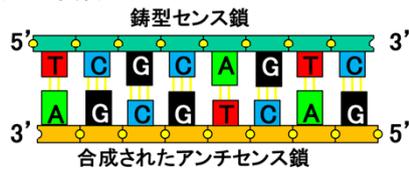
DNAの半保存複製

元の2本鎖DNA



↓ DNA複製

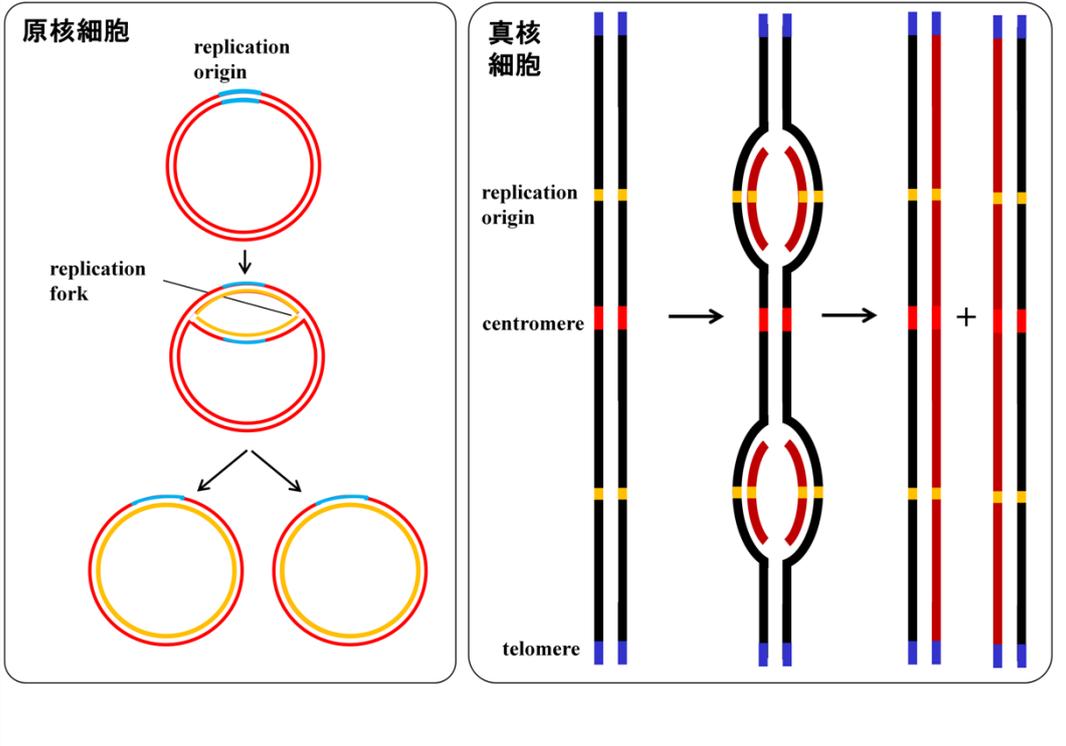
複製後の2本鎖DNA



DNAの半保存複製

DNAの半保存複製を示したものです。もともとの2本鎖DNAが解離し、それぞれを鋳型として正確に対応した塩基配列を持つ相補鎖が合成され、結果として正確なDNA複製がなされます。

原核細胞と真核細胞のDNA複製

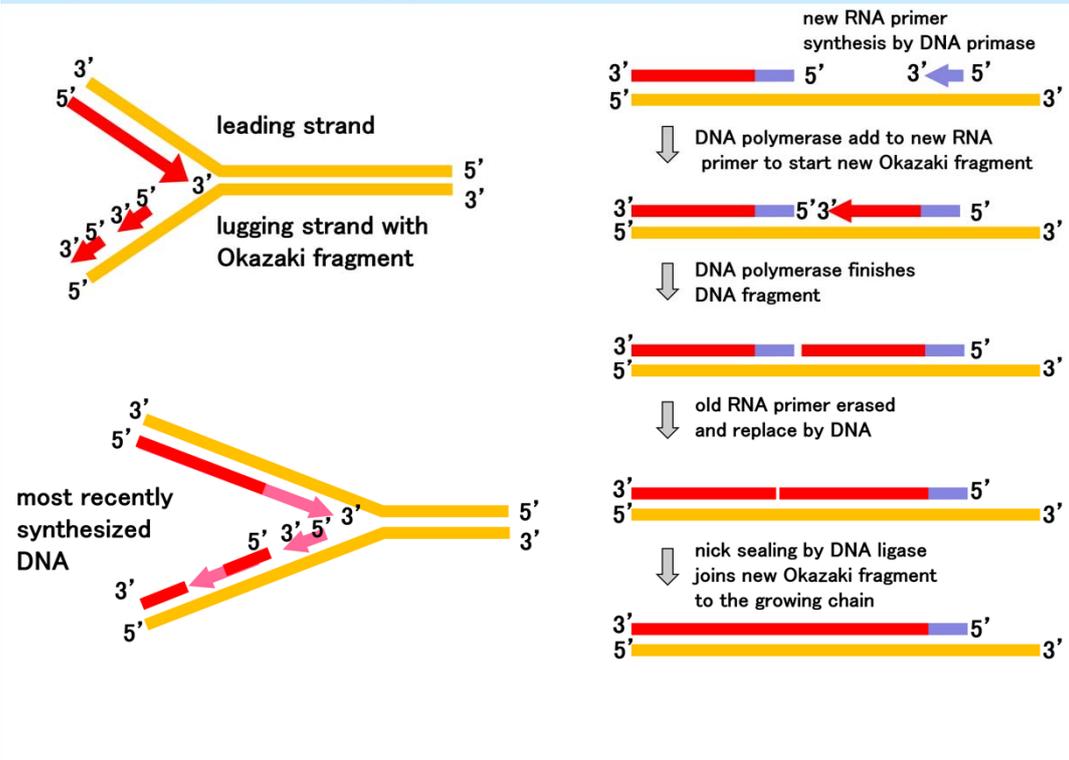


原核細胞と真核細胞のDNA複製

DNAの複製の起こり方のモデルとして細菌などの原核細胞を見てみましょう。細菌の環状2本鎖DNAには複製開始点(replication origin)と呼ばれる領域があります。複製が始まるときにはまずこの部分の2本鎖DNAが解離し、それぞれのDNAの鎖の両方に相補鎖の合成が進みます。進む先々でもととの2本鎖は解離していき、最終的に2つの環状2本鎖DNAが完成します。DNAの合成に追われるように元の2本鎖DNAが解離していくところは三叉状に見えreplication forkと呼ばれます。

真核細胞ではそれぞれの染色体DNAに複数の複製開始点があり、同時に複製が始まります。

DNA複製: leading strand と lagging strand



DNA複製: leading strand と lagging strand

DNAの複製は複製開始点から見て両方向に同時に進みます。しかし 実際のDNAの合成反応は5'側から3'側への1方向性にしか起こりません。

左上の図で示したようにの上側の鎖の相補鎖の合成反応は左から右へすなわち5'側から3'側へと進んでいきます。これをleading strandと呼びます。一方反対側の下の鎖の相補鎖の合成反応は5'に新しいフラグメントを継ぎ足していく形で進みます。これをlagging strandと呼びます。この新しく合成される断片状のDNAをOkazaki fragmentと言います。Okazaki fragmentの合成はまずRNAプライマーの結合で始まります。その後その3'側にDNA相補鎖が合成されていきます。合成が先にあるフラグメントに達するとそのRNAプライマーをDNAに置き換える形で進行し最終的にひと続きのDNAを作り上げます。(右図)

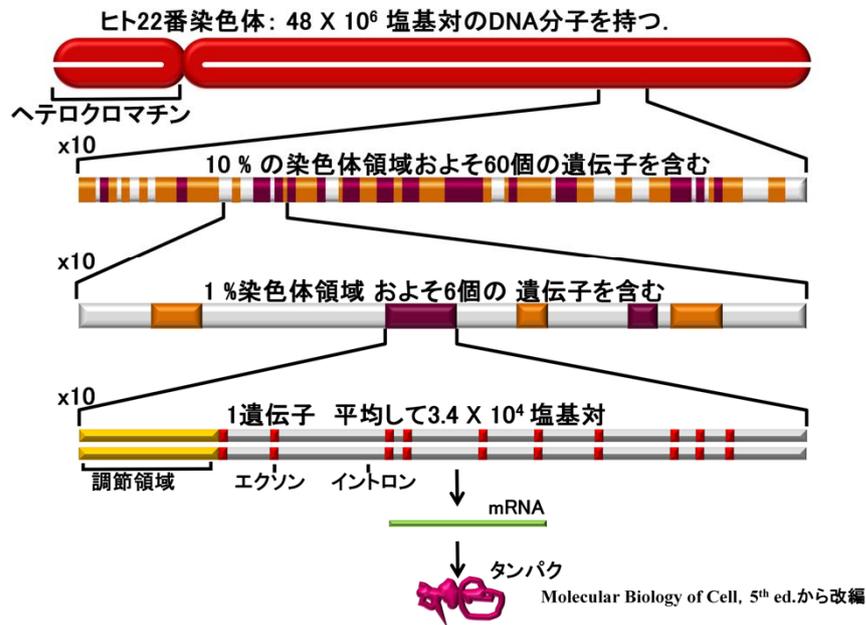
3 DNAの複製のまとめ

- ・ DNAの複製は細胞分裂ごとに行われ、遺伝情報がそれぞれの娘細胞に忠実に受け継がれる。
- ・ DNAの複製は2本鎖DNAのそれぞれを鋳型として相補鎖が合成される(半保存複製)。

3 DNAの複製

DNAは遺伝情報すなわち塩基配列を忠実にコピーする形で複製されます。複製は細胞分裂のたびに行われ、2本鎖のそれぞれを鋳型として相補鎖が合成されるもので、半保存複製と呼ばれます。

4 遺伝子の構造と発現



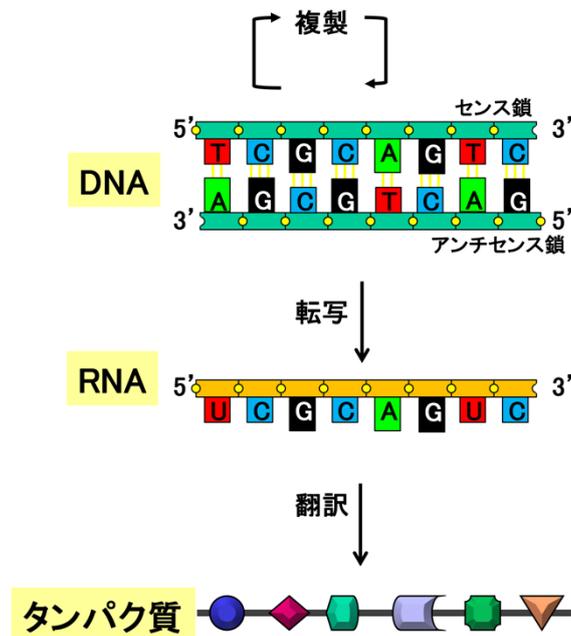
4 遺伝子の構造と発現

1億以上もの塩基対を持った長大な分子であるDNAのなかに遺伝子と呼ばれる部分があります。この遺伝子の部分にはタンパク質を合成するための情報が詰まっています。その情報とは前述した4種類の塩基の配列の特性によって決まるものです。遺伝子の最も重要な情報は特定のタンパク質のアミノ酸配列の暗号(コドン)と暗号部分の始まりを知らせ転写を行う条件を指定するユニット(調節領域といいます)です。1つの遺伝子は平均して3.4万塩基対(34kb)ほどの大きさで、最大の遺伝子と呼ばれるジストロフィン遺伝子でなんと2.4Mb(2400kb)あります。例えば非常に小さい染色体である22番染色体は約48MbからなるDNAから成り立ちます。そこには約600個の遺伝子があると言われています。仮にその平均サイズが34kbとすると20,400kbが遺伝子部分になります。これは全ての塩基配列の42%に相当します。21番染色体は45Mbあり遺伝子が330個ほどありますので、DNA分子の25%が遺伝子部分ということになります。

遺伝情報の保存・複製と発現

遺伝情報はDNAに保存され、細胞が特定のタンパクを必要とするときはその遺伝情報を持つDNA領域のヌクレオチド配列がRNAにコピーされ、RNAを鋳型としてポリペプチドを合成する。

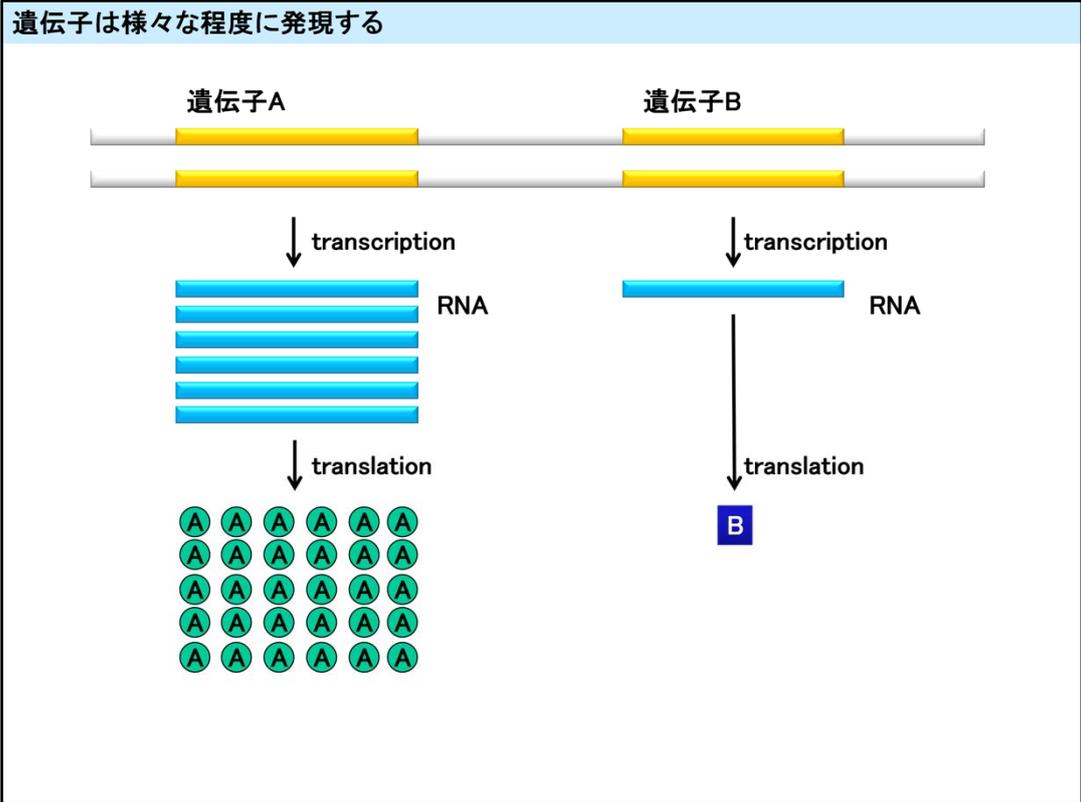
この遺伝情報発現の基本システムは、細菌からヒトまであらゆる生物に共通している原理である。これをセントラルドグマと言う。



遺伝情報の保存・複製と発現

遺伝情報はDNAに保存されています。細胞が特定のタンパクを必要とするときはその遺伝情報を持つDNA領域(遺伝子)のヌクレオチド配列がRNAにコピーされ、RNAを鋳型として翻訳されポリペプチドを合成します。すなわち DNAが遺伝情報の保存・世代間伝達、RNAが遺伝情報発現のメッセンジャー、タンパクが遺伝情報の効果を発揮する媒体となります。

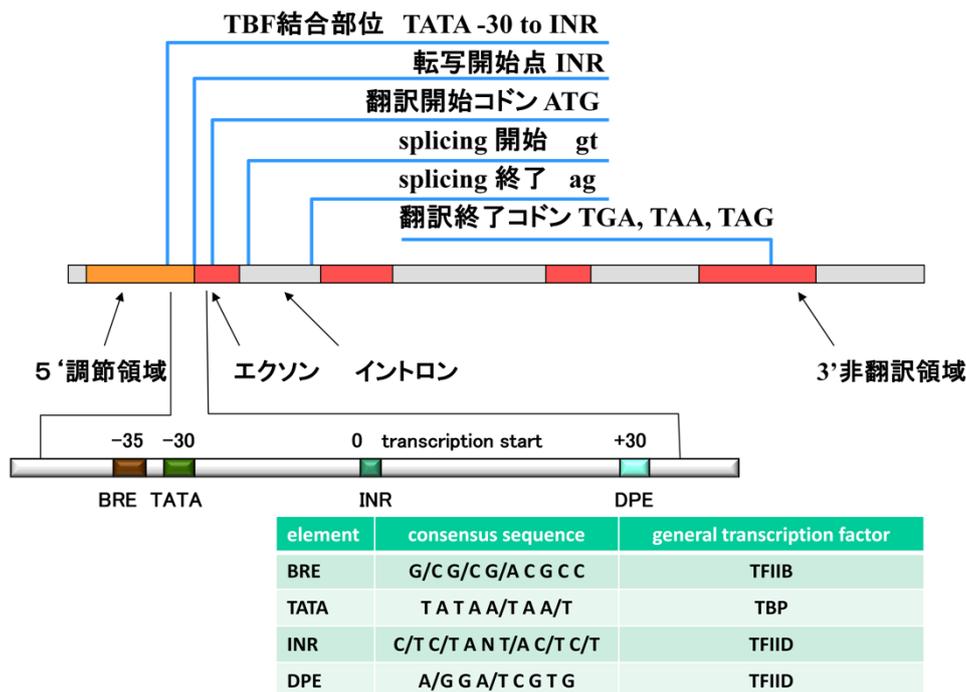
この遺伝情報発現の基本システムは、細菌からヒトまであらゆる生物に共通している原理で、これをセントラルドグマと言います。



遺伝子は様々な程度に発現する

高等生物では通常遺伝子は常染色体上に2コピーあります。遺伝子の発現レベルはRNAへの転写の程度、RNAからタンパクへの翻訳の程度によって規定されます。

遺伝子の基本的構造



遺伝子の基本的構造

ヒトなど真核生物の遺伝子はタンパク質のアミノ酸配列の暗号となるコード領域と転写に関係する5'調節領域、そのほか3'非翻訳領域に分かれます。コード領域はmRNAに転写される部分(エクソン)に含まれますが、エクソン部分は遺伝子の中にとびとびに散在しその間にはmRNAでは切り落とされる部分に相当するイントロンが介在します。イントロンには暗号コードは含まれません。

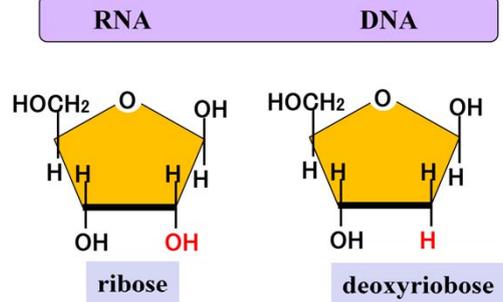
翻訳開始は第1エクソンの最初のATGから始まり、翻訳の終止はTGAなどのストップコドン(翻訳終了コドン)で規定されます。全体が転写された一時転写産物からイントロン部分を切り落とす作業をスプライシングと言います。このスプライシングの場所を規定する配列があります。イントロン部分の初めは必ずgtで終わりはagになることからgt-agルールと呼ばれます。

転写の際に最初に転写因子が結合する部分がTATAボックスと呼ばれる領域で転写の開始点から30塩基ほど5'側にあります。それ以外にも転写開始点周囲にはいくつかのコンセンサス配列があり、転写開始にかかわる様々なタンパクの結合部位を提供します。

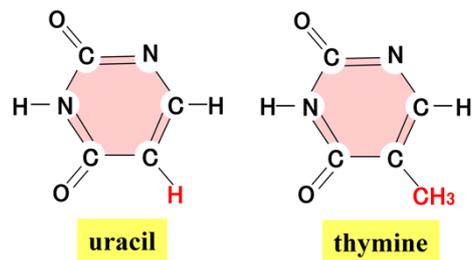
RNAの化学構造

RNAとDNAの違い

1 ribose と deoxyribose



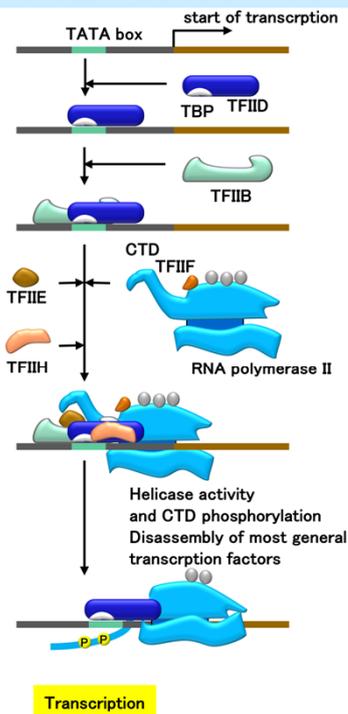
2 uracil と thymine



RNAの化学構造

ここでRNAについて知識をチェックしましょう。DNA同様、核酸の一種であるRNAはribonucleic acidの略ですが、DNAと異なり多くは1本鎖です。構造の違いは、糖はdeoxyriboseではなくてriboseが、塩基はチミンの代わりにウラシルが結合します。

真核細胞の転写開始には多数の一般的転写因子が必要である。



A TBP (TATA box binding protein)が、TFIID (transcription factor for polymerase II D)に結合し、転写開始点の25bp上流のTATA boxを認識し結合する。

B その結果、その部位にTFIIBが結合する。TFIIDはDNA鎖のねじれをゆるめる。

C さらに多数のファクターを結合したRNA polymerase IIが結合。TFIIIE, TFIIHが結合。

D 準備完了。

E 転写が開始される。

真核細胞の転写開始

真核生物における遺伝子の転写を簡単に説明しましょう。

A TBP (TATA box binding protein)が、TFIID (transcription factor for polymerase II D)に結合し、DNA (遺伝子)上の転写開始点の25bp上流のTATAの塩基配列 (TATA box)を認識し、その場所に結合します。

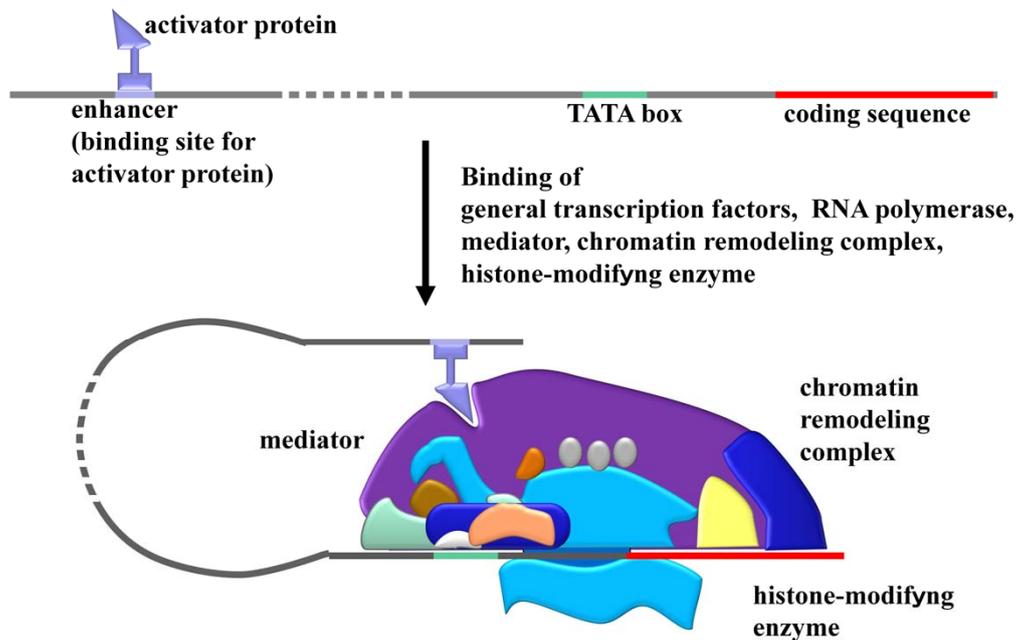
B その結果、その部位にTFIIBが結合できるようになります。

C さらに多数のファクターを結合したRNA polymerase IIが結合。さらにTFIIIE, TFIIHが結合し、巨大な複合体 (イメージはトンネル開削機)を形成します。TFIIHの結合によってDNA鎖のねじれがゆるめられます。

D 準備完了です。RNA polymerase II複合体がDNA鎖をほどこきながら下流へ移動しつつ相補的なRNAにDNA情報を転写します。

E 転写が開始されます。

真核細胞の転写開始にはさらに調節領域のエンハンサーも関与する。



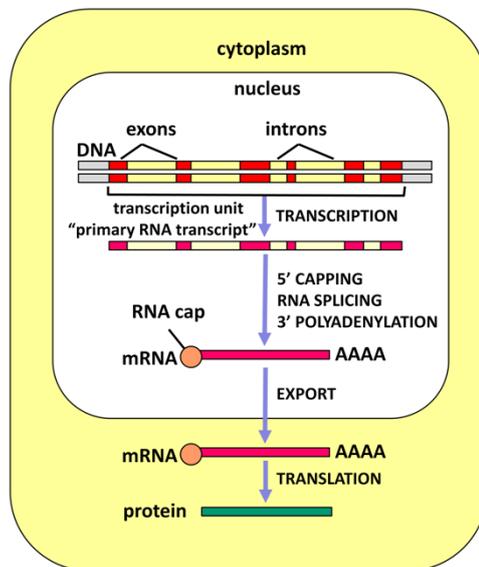
調節領域のエンハンサー

真核細胞の転写の開始にはさらにRNA polymerase IIの結合部位から遠く離れた場所にあるエンハンサーと呼ばれる領域も関係します。

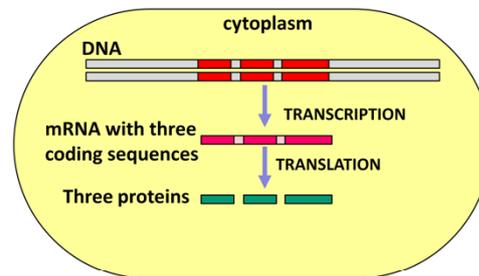
エンハンサーと呼ばれるDNAの領域は転写の活性化を促すタンパク質が結合する部位で結合した活性化タンパク(activator)はmediator, histone-modifying enzyme, chromatin remodeling complexなどが結合し巨大化したRNA polymerase II 複合体に働きかけ転写の開始を引き起こすとされています。

転写後には真核細胞でmRNAに成熟するまでに様々なプロセスがある。

A 真核細胞



B 原核細胞



転写後mRNAに成熟するまでの様々なプロセス

真核細胞の転写後のプロセスは、細菌などの原核細胞と比べると非常に手の込んだものです。

遺伝子のDNAはコーディング鎖がRNAに転写されますが、これを一次RNA転写物と言います。この転写物のうちアミノ酸をコードしない部分(イントロン)が切りだされアミノ酸をコードする部分(エクソン)だけが連結した形になります。この過程をRNAスプライシングと言います。また、5'末端のリン酸にメチル基が付加される修飾(5' cappingと言います)を受け、3'側は非翻訳領域の末端にpoly A tailと呼ばれるアデニン塩基が複数連続して付加されます。

ここまでの反応が核内で行われ、mRNAが出来上がります。この過程をプロセシングとも言います。mRNAは核外に出て粗面小胞体でたんぱく質に翻訳されます。

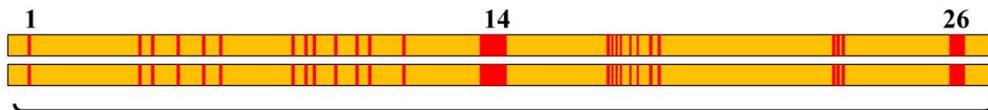
真核細胞の遺伝子はエクソンとイントロンから構成される。

human β globin gene

123


2,000 base pairs with three exons

human factor VIII gene

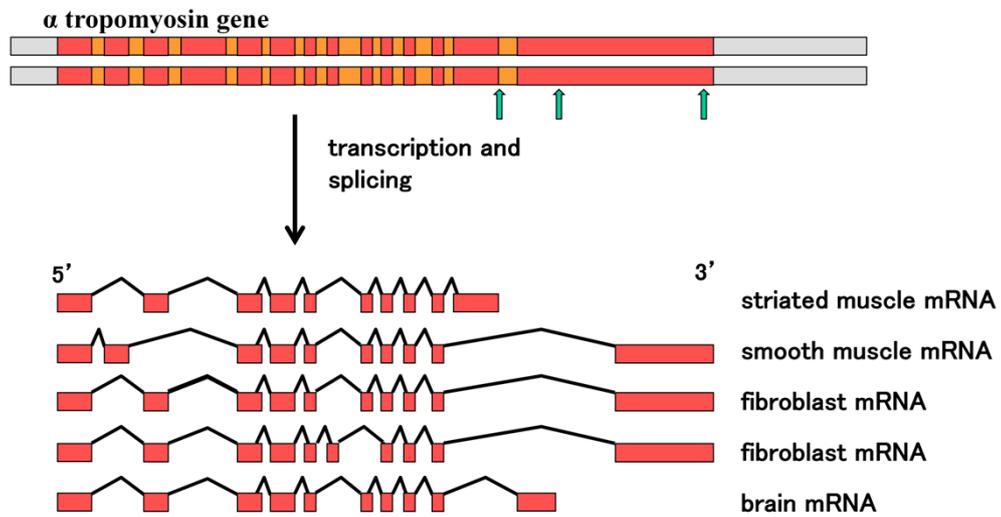


200,000 base pairs with 26 exons

エクソンとイントロン

真核細胞の転写の最大の特徴はスプライシングです。ヒトの遺伝子には β グロビン遺伝子のようにエクソンが3つのものもあれば、第8因子の遺伝子のようにエクソンが26個あり、全体が200 Kbと非常に大きな遺伝子もあります。真核細胞ではコーディング領域が多くのエクソンに分かれイントロンに寸断された形で存在するのはなぜでしょうか？

ラット α トロポミオシン遺伝子にみられるalternative splicing.



alternative splicing

真核細胞のエクソン/イントロンの意義は、1つには多細胞生物であることに関係するかもしれませんが、遺伝子の一次転写産物からは特定のmRNAが合成されるとは限らず、好みのエクソンだけをつなぎ併せるalternative splicingによって少し違ったmRNAを作ることができます。このさまざまなパターンのスプライシングにより、1つの遺伝子から複数のバリエーションを持った遺伝子産物を合成することが可能となります。多細胞生物ではさまざまに分化した細胞で特定のalternative splicingを行うことでそれぞれに特異なタンパクを合成することができるようになったと考えられます。

転写・翻訳に関わる絶対的なコンセンサス配列

```

CCCTGTGGAGCCACACCCTAGGGTGGCCA
ATCTACTCCAGGAGCAGGAGGGCAGGAG
CCAGGGCTGGGCATAAAAGTCAGGGCAGAG
CCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACAC
AACTGTGTTCACTAGCAACTCAAACAGACA
CCATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGT
CTGCGGTACTGOCCTGTGGGGCAAGGTGA
ACGTGGATGAAGTTGGTGTGAGGCCCTGG
GCAGCTTGGTATCAAGTTTACAAGACAGGT
TTAGGAGACCAATAGAACTGGGCATGTG
GAGACAGAGAAGACTCTGGGTTTCTGATA
GGCACTGACTCTCTGCTATTGGTCTAT
TTTCCACCCCTAGGCTGCTGGTGTCTAC
CCTTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCCIT
GGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTATG
GGCAACCTTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAG
AAAGTCTGGTGCCTTAGTGATGGCCTG
GCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTT
GCCACACTGAGTGAGCTGCACTGTGACAAG
CTGCACGTGGATCCTGAGAAGCTCAGGGTG
AGTCTATGGGACCTTGATGTTTCTTCC
CCTCTTTTCTATGGTTAAGTTCAITGTCAT
AGGAAGGGGAGAAGTAACAGGGTACAGTTT
AGAATGGGAAACAGCAAGATGATTGATCA
GTGGAAGTCTCAGGATCGTTTTAGTTTC
TTTTATTGCTGTTCATAACAATGTTTTC
TTTGTTTAATTCCTGCTTCTTTTTTTT
CTTCTCCGCAATTTTACTATTATACTTAA
TGCTTAACATTGTGTATAACAAGGAAA
TATCTCTGAGATACATTAAGTAACTTAAAA
AAAAACTTTACACAGTCTGCTAGTACATT
ACTATTGGAAATATAGTGTCTATTGTC
ATATTATAAATCCCTACTTTATTTCTT
TTATTTTAAATGATACATAATCATTATAC

```

```

TTCTCTTTTAATACTTTTTTGTATC
TTATTCTAATACTTCCCTAATCTTTTC
TTTCAGGGCAATAATGATACAATGTATCAT
GCCCTTTGCACCATTCTAAAGAATAACAG
TGATAATTTCTGGGTAAAGCAATAGCAAT
ATTTCTGCATATAAATATTTCTGCATATAA
ATTGTAAGTATGATGAAGAGGTTTCATATTG
CTAATAGCAGCTACAATCCAGTACCATTTC
TGCCTTTATTTTATGGTTGGGATAAGGCTG
GATTTATCTGAGTCCAGCTAGGCCCTTTT
GCTAATCATGTTTCATACCTCTTATCTTCTC
CCCACAGCTCCTGGGCAAGCTGCTGTCTG
TGTGCTGGCCATCACTTTGGCAAGAATT
CACCCACCACTGCAGGCTGCCTATCAGAA
AGTGGTGGCTGGTGTGGCTAAGGCCCTGGC
CCACAAGTATCACTAAGCTGGCTTCTTGC
TGTCCAAATTTCTATTAAAGGTTCCCTTGT
CCCTAAGTCCACTACTAATACGGGGATA
TTATGAGGGCCTTGACATCTGATTTCTG
CCTAATAAAAAACATTTATTTTCATGCAA
TGATGTATTAAATATTCTGAATATTTT
ACTAAAAAGGAAATGTGGAGGTCAGTGCA
TTTAAAAATAAAGAAATGATGAGCTGTC
AAACCTTGGGAAAATACACTATATCTTAAA
CTCCATGAAGAAGGTGAGGCTGCAACCAG
CTAATGCACATTTGGCAACAGCCCTGATGC
CTATGCTTATTCATCCCTCAGAAAAGGAT
TCTGTAGAGGCTTGAATTTGAGGTTAAG
TTTGTCTATGCTGATTTTACATTACTTAT
TGTTTTAGCTGCTCATGAATGCTTTTTTC

```

TBF結合部位	TATA -30 to INR
転写開始点	特になし
翻訳開始コドン	ATG
splicing 開始	gt
splicing 終了	ag
翻訳終了コドン	TGA, TAA, TAG
転写終了	特になし

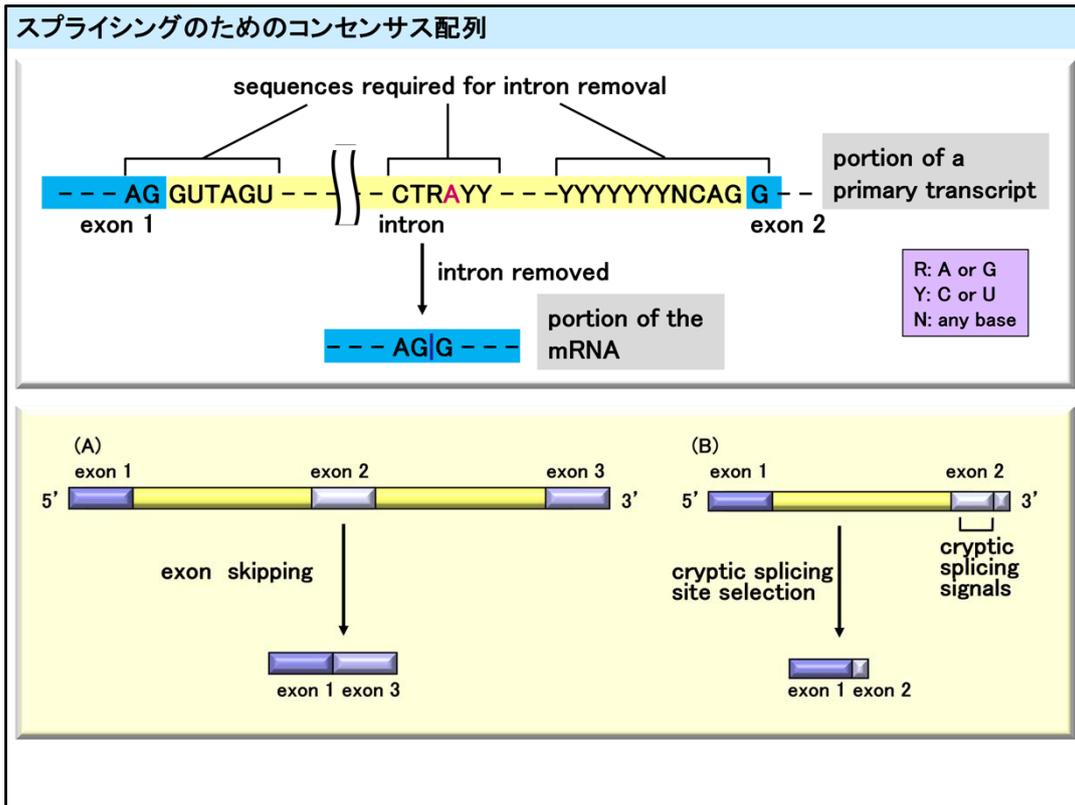
© Molecular Biology of the Cell 5th ed.より

転写・翻訳に関わる絶対的なコンセンサス配列

遺伝子の塩基配列で覚えてほしい重要なものを挙げてみます。

左図は黄色い部分がタンパクのコード領域で白い部分はイントロンです。遺伝子の構造上とくに転写と翻訳の際に重要なポイントを挙げました。

全てのタンパクで開始コドンはメチオンを指定するATGです。



スプライシングのためのコンセンサス配列

スプライシングのためのコンセンサス配列と言うべきものがあります。

- ① 先行エクソンの末尾はAGで、引き続くイントロン最初の塩基はGT
- ② イントロン中間部にコンセンサス配列(CTRAYY)
- ③ イントロンの最後はAGで次のエクソンの最初の塩基はG

すなわち 特にエクソン—イントロン境界の塩基配列がイントロン部分の切り取りの上で重要な意味を持っていることが理解できます。

スプライシングにかかわる塩基のコンセンサス配列に異常があると正しくスプライシングが行われません。そのためにイントロン1のはじまりからイントロン2の終わり部分までが1つのイントロンとして取り扱われエクソン2が抜け落ちてしまうようなexon skippingが起こります(A)。また、イントロン内部やエクソン部分の塩基配列の変化によってあやふやなスプライスサイトができることもあります。そうすると右の図のようにスプライシングが正しく行われなことが起きます(B)。

The genetic code と reading frame

Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	Stop
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	
GC A GC C GC G GC C U	AG A AG G CG A CG C CG G CG U	GA C GA U	AA C AA U	UG C UG U	GA A GA G	CA A CA G	GG A GG C GG G GG U	CA C CA U	AU A AU C AU U	UU A UU G CU A CU C CU C CU U	AA A AA G	AU G	UU C UU U	CC A CC U CC G CC U	AG C AG C UC A UC C UC G UC U	AC A AC C AC G AC U	UG G	UA C UA U	GU A GU C GU G GU U	UA A UA G UG A
CUCAGCGUUACCAU																				

- 1 CUC AGC GUU ACC AU
-L---S---V---T--
- 2 C UCA GCG UUA CCA U
-S---A---L---P--
- 3 CU CAG CGU UAC CAU
-Q---R---Y---H-

The genetic code と reading frame

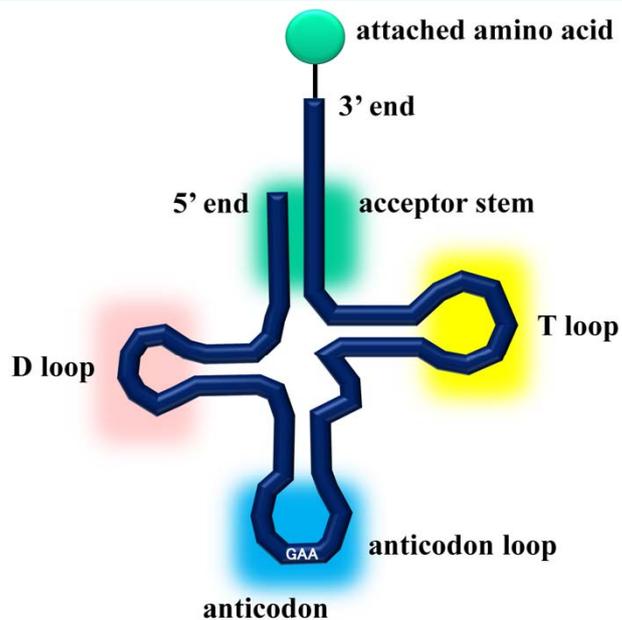
細胞質に移動したmRNAはリボゾームでタンパクへの翻訳作業を受けます。

この際三つの塩基配列(コドン)が特定のアミノ酸を指定します。

コドンの暗号は図の上にしたアミノ酸に対応します。アミノ酸は3文字表示と1文字表示があります。覚えましょう。

3つの暗号は連続していますので、どの文字から読み始めるかで3通りの読み枠が想定されますが、実際にはその1つしか使われません。

t-RNAの構造



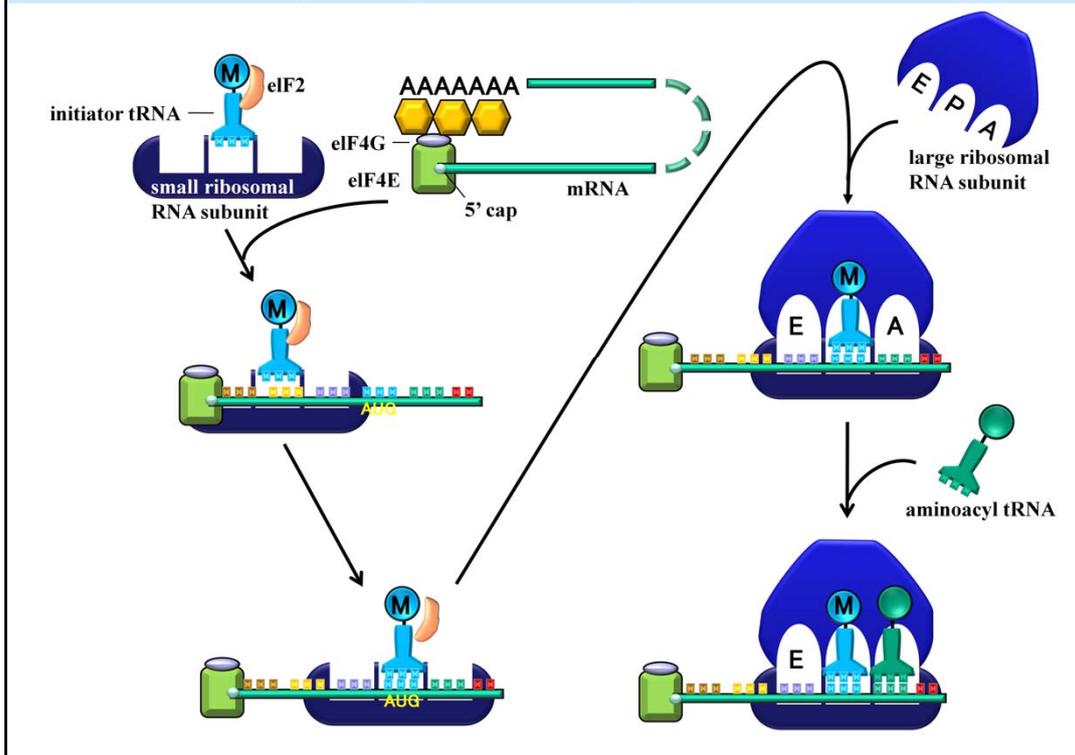
t-RNAの構造

リボソーム上でアミノ酸への翻訳が行われるときにペプチド鎖に付加するアミノ酸を持ち込む役目はtransfer RNA (t-RNA)が行います。

t-RNAは一本鎖のRNA分子がクローバー型と呼ばれる立体構造を取っており、mRNAのコドンに対応して結合するanticodon部分を有します。3'末端にはanticodonに対応したアミノ酸が結合します。

特定のアミノ酸を結合したt-RNAをaminoacyl t-RNAと呼びます。

翻訳－１：Initiation of protein synthesis in eukaryote.



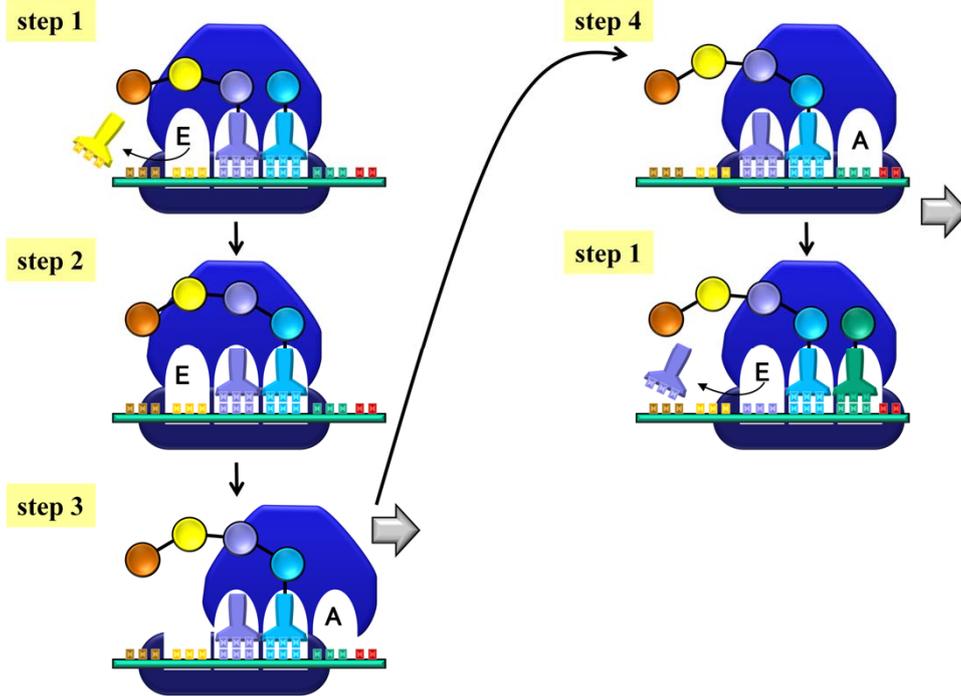
翻訳－１：Initiation of protein synthesis in eukaryote

タンパクへの翻訳工場にあたるリボゾームは大小2つのサブユニットから成り立ちます。それぞれのサブユニットは50種類以上のたんぱく質(リボゾームタンパク)と数種類のリボゾームRNA(r-RNA)からなる複合体です。小サブユニットはmRNAにt-RNAのアンチコドンを正確に対応させる場で、大サブユニットはアミノ酸間にペプチド結合を形成しポリペプチドを合成させます。真核細胞では数百万個のリボゾームがあります。

真核細胞での翻訳の開始を図に示しました。

- ① 小サブユニットに開始コドンに対応するメチオニンのついたtRNAが結合します。
- ② これがキャップ構造を持ったmRNAを認識し結合します。
- ③ 小サブユニットは最初のコドンAUGをみつけるまでmRNAをスキャンします。
- ④ 開始コドンを見つけるとそこに大サブユニットが結合します。大サブユニットには3つのtRNA結合部位(それぞれE部位, P部位, A部位)があります。
- ⑤ これで準備OKです。次のコドンに対応するaminoacyl tRNAがA部位に結合し、ペプチド結合が形成されます。

翻訳ー2: Elongation of polypeptide chain in eukaryotes

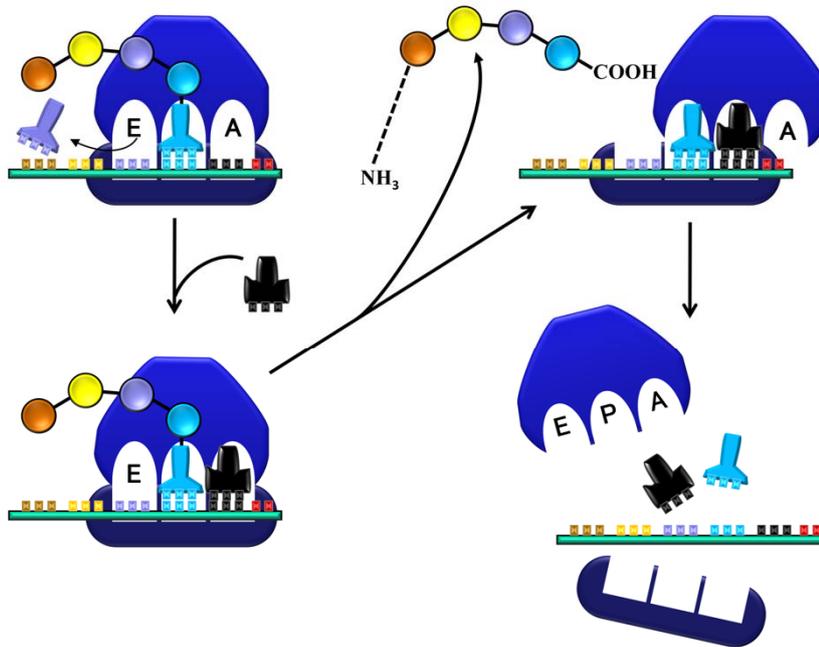


翻訳ー2: Elongation of polypeptide chain in eukaryotes

開始後の翻訳の展開を説明します。

- ① A部位に次のtRNAが結合する。
 - ② ペプチド結合が起き、ペプチド鎖が伸長するとともにP部位にあったtRNAに結合していたアミノ酸が分離する。
 - ③ 大サブユニットが右に1つずれA部位がオープンになる。
 - ④ 小サブユニットが1つずれ、A部位に新しいコドンが展開する。
 - ⑤ E部位に移動したtRNAが離脱する。すなわち①に戻る。
- これを繰り返しポリペプチド鎖が伸長します。

翻訳-3: Termination of protein synthesis in eukaryotes



翻訳-3: Termination of protein synthesis in eukaryotes

A部位に終始コドンが来た場合は終結因子が結合しポリペプチド鎖の最後のアミノ酸にOH基を付加しCOOH末を形成し放出されます。リボゾームの大小サブユニットとmRNAは解離し、翻訳作業チームは解散です。

4 遺伝子の構造と発現のまとめ

- 遺伝子の基本的にエクソン(特定のタンパク質のアミノ酸配列のコード領域), イントロン(エクソン間の配列), 転写開始にかかわるユニット(調節領域)から構成される.
- 調節領域の転写(TATA box), 翻訳開始(ATG), スプライシング(gt--ag), 翻訳終了(TAA, TAG, TGA)などは共通の配列(コンセンサス配列)を認識して行わる.
- DNAが遺伝情報の保存・世代間伝達をにない, RNAに転写され, 翻訳されたタンパクが遺伝情報の効果を発揮するシステムは全生物で共通しておりセントラルドグマという.
- アミノ酸は3塩基のコドンにより指定される.
- DNAの遺伝情報はRNAに転写されたあと, スプライシング, 5'キャッピング, poly A の付加を受けmRNAとなる.
- mRNAは核外に出て粗面小胞体上のリボゾームで翻訳されポリペプチド鎖が合成される.

4 遺伝子の構造と発現 まとめ

5 DNAの変異と個体差



DNA多型

生物のDNAの塩基は一定の確率で変異します。DNAの個体における差異を変異と呼んだり多型と呼び生物種の個体差を理解するうえで重要です。

遺伝子の暗号部分の塩基置換などの変異は遺伝性の疾患を引き起こす原因となります。しかし、それがアミノ酸を置換をきたす変異であっても必ずしも病気とはならないことも知られています。表現型の違いが生じる場合もあれば、そうでない変異があるのです。その意味では変異といういい方の意義も問われることとなります。

遺伝子領域での変異が著しく病的な結果をもたらさないものは、集団の中で維持される(ABO血液型など)ことは多々あり、いわゆる個体差の内因そのものと考えられます。

DNA多型とはゲノム上にある塩基配列の多様性を言うもので、遺伝子病の原因となる変異ではないものの、個体差や体質の遺伝的素因となりえます。

集団内でアレル頻度が1%以上あれば“変異:mutation”ではなく“多型:polymorphism”という定義もありますが、むしろその表現型への影響からの定義も勘案して議論があるところでは、遺伝子の非コード領域や遺伝子以外の部分の塩基配列には幅広い個体差があり、代々受け継がれます。

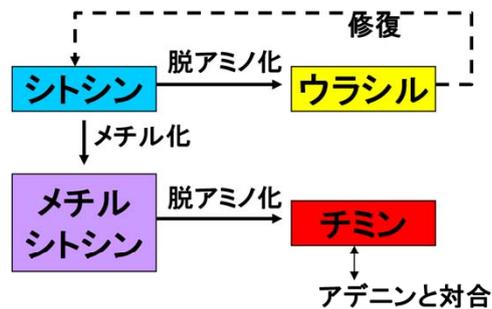
塩基の変異例

- 脱アミノ化:最も多く一日あたりゲノム全体で100塩基の割合で自然に発生する.

- メチル化:

C → T

G → A



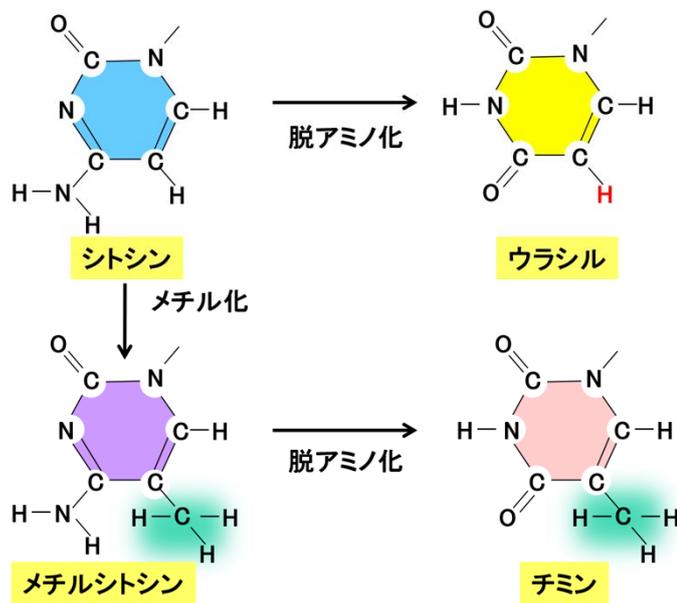
- 脱プリン化: $\Delta A, \Delta G$
- グアニンの脱アルキル化: C → T
- 塩基類似体の複製時の取り込み: 5-BrdUはチミンの類似体でグアニンと対合: T → C

5 DNAの変異と個人差

DNAで塩基は暗号にかかわることもある重要なものですが、自然に変異していくものであることを知る必要があります。

スライドに挙げたようなものが現実にかかる代表的な変異です。

シトシンはチミンに変化しやすい



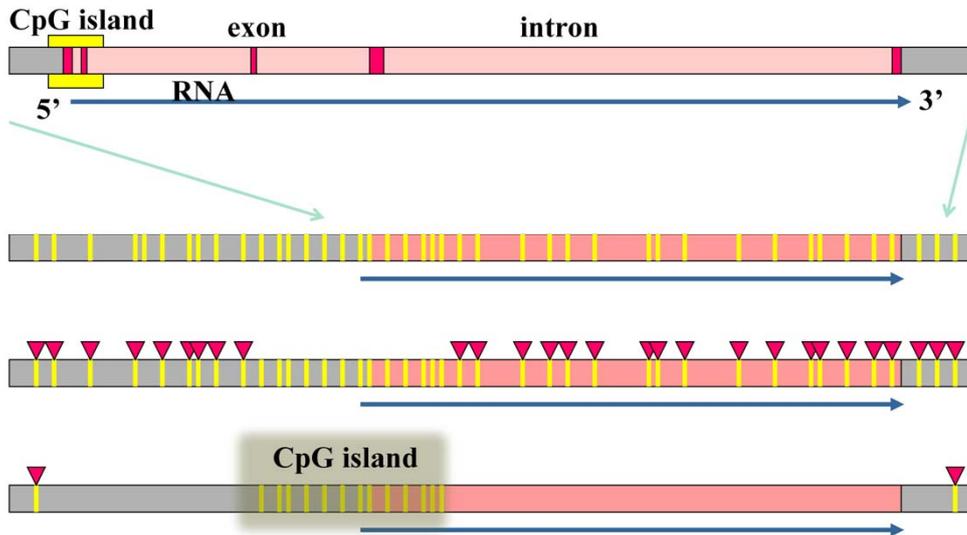
シトシンはチミンに変化しやすい

塩基変異の代表はシトシンの脱アミノ化です。人1人につき一日100か所で起こるとの予想がされていますが、そのすべてがウラシルとなりますからDNAの修復機構によりすべてシトシンに戻ります。

シトシンのメチル化は自然にあるいは生体の持つエピジェネティックな塩基修飾機構の1つとしても起きます。その結果できるメチルシトシンは細胞内で修復されることなく、脱アミノ化を受けるとチミンに変換されます。チミンはもともとDNAを構成する塩基ですから修復されません。こうしてシトシンからチミンへの塩基変異はヒトで最も多い変異となっています。

CpGアイランド

ハウスキーピング遺伝子の転写開始点周囲ならびにその5'側 2,000 bpほどの領域にはCpG islandと呼ばれる。CとGの多い領域がある。



CpGアイランド

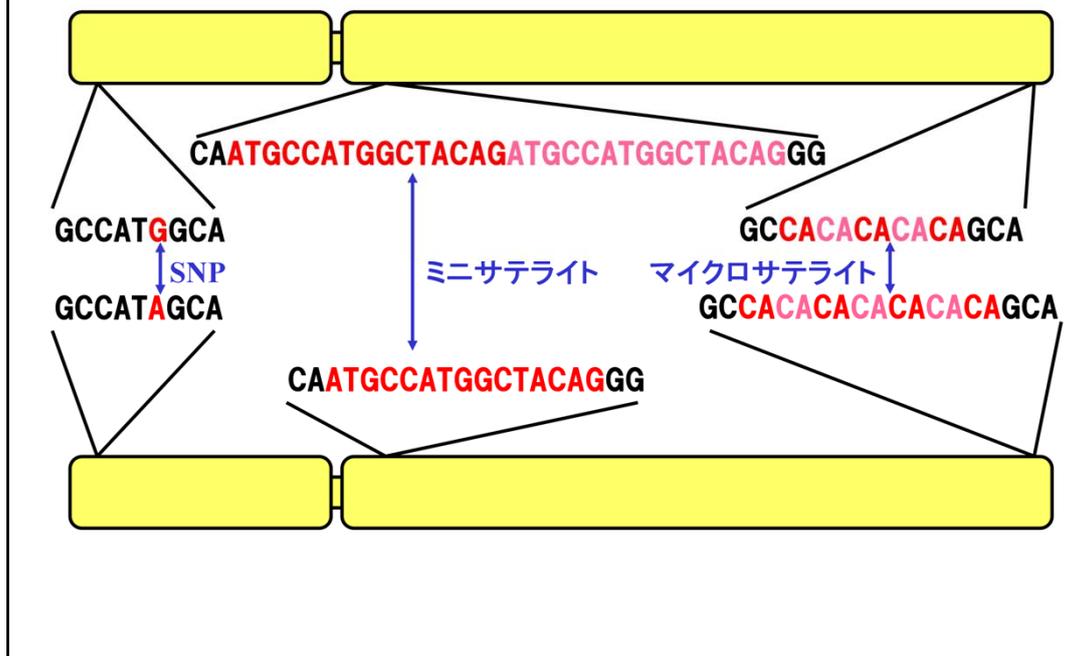
どうしてでしょう, 考えてください

キーワードはメチル化と遺伝子の活性化です.

ヒントです

- 1 シトシンは自然にメチル化される
- 2 メチル化シトシンはチミンに変換される
- 3 多くの細胞で発現する遺伝子(ハウスキーピング遺伝子)の調節領域のCG配列は脱メチル化を受けている。(メチル化は遺伝子の不活性化をもたらす).
実際にはCpG配列(CG配列)はハウスキーピング遺伝子では生殖細胞系列で非メチル化される.

3つの代表的なDNA多型



3つの代表的な遺伝的多型

(DNA多型, ゲノム多型)を図示しました. 以下にそれぞれの解説をします.

スニップ SNP single nucleotide polymorphism

1塩基の差異.

ヒトでは1,000 bpに1つの割合で存在.

全ゲノム中に150万個あり, その位置も確定している.

マイクロサテライト

STR (short tandem repeat): CA など2-4塩基の反復

2-10回程度の反復する領域

ミニサテライト

VNTR (variable number tandem repeat)

20-500塩基の単位配列が様々な回数反復する領域

身体機能に影響する遺伝子多型

α アクチニン3の遺伝子型

R型 577番目の塩基がArg

X型 577番目で翻訳終結： α アクチニン3が合成されない

RR型 短距離走の選手に多い

XX型 長距離走の選手に多い

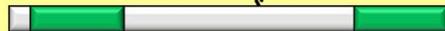
α アクチニン3：速筋に発現し、崩壊を防いでいる？

アンジオテンシン変換酵素(ACE)の遺伝子多型

I型 第16イントロンに287bpのAlu反復配列がある



D型 同反復配列がない：ACEの血中濃度が高い



II型, ID型 無酸素登頂に成功

身体機能に影響する遺伝子多型

*ACTN3*遺伝子：11番染色体 α アクチニン3について説明します。

577番目の塩基がアルギニンになる577R型と、 α アクチニン3を作れない577X型の2種類の多型がある。*ACTN3*の遺伝子型はRR, RX, XXの3通り。2003年に、オーストラリアのオリンピック選手らを対象にして、*ACTN3*遺伝子型調査したところ、短距離走等の瞬発系競技の選手にはRRの人が多く、長距離走等の持久系競技の選手にはXXの人が多いたことがわかった。RRの人はスプリンター向きで、XXの人はマラソン選手向きであることを物語る結果である。筋肉(筋線維)には、「速筋」と「遅筋」の2種類があるが、 α アクチニン3は速筋にしか存在しないタンパク質である。速筋が多い人は短距離型で、遅筋が多い人は長距離型といわれる。*ACTN3*遺伝子を研究する東京大学教授によれば、R型の*ACTN3*遺伝子が生み出す正常な α アクチニン3は、ハードなトレーニングによって速筋が破壊されるのを防いでいる可能性があるという。

*ACE*遺伝子：17番染色体 アンジオテンシン変換酵素(ACE)について説明します。

第16イントロンに287bpのAlu反復配列の挿入があるI allele とそれがない D allele からなる多型がある。D型ではACEの血中レベルがI型に比べ高くなることが知られている。無酸素登頂に成功した登山家は、全員がIIもしくはIDであり、DDはいなかった。これ以外にも、複数の研究によって、I型のACE遺伝子を持つ人ほど持久力が高いという傾向が示されている。ACEは血管内皮細胞の細胞膜にあって血中のアンジオテンシンIをアンジオテンシンIIへと変換する。アンジオテンシンIIは血管を取り巻く筋肉を収縮させ、動脈の内径を狭めさせる。こうして、ACEが働くと血圧が高まる。I型のACEを持つ人は動脈の内径が広く保たれやすいため筋肉への栄養供給に優れており、結果として持久力が高まっている可能性があるという。

変異と多型, 疾患と個体差

- 多型はかつて遺伝的マーカーとして, 連鎖解析, 個人識別, 親子鑑定などに用いられてきた.
- 遺伝子周囲の多型は遺伝子の機能や発現レベルに影響を与えるものがある.
- その多くは中間遺伝の性質をとる.
- 多型はたぶん to 選択と関係があり, 多型の中に進化がみえる.

変異と多型, 疾患と個体差

DNA配列の差異は表現型に全く関与しないものもある一方, 多様な個体差の主たる内因として機能していると考えられます. それは適応と選択に関係する場合がありますある意味生物の進化にかかわる要素として最も重要であると思われる.

5 DNAの変異と個体差

- 塩基置換, 反復配列の変化などの変異は一定の確率で起こる.
- 非コード領域の配列には個体差がある.
- 遺伝子産物の機能や遺伝子の発現に大きな影響をもたらす変異は病因となる.
- 遺伝子領域での変異がそれほど病的な結果をもたらさなければ, 集団の中で維持され (ABO血液型など), 個体差や遺伝的素因となる.
- DNA多型とはゲノム上にある塩基配列の多様性のことを言う. 遺伝子病の原因となる変異ではない.
- アレル頻度が1%以上あれば“変異: mutation”ではなく“多型: polymorphism”と定義される.

DNA多型

生物のDNAの塩基は一定の確率で変異します. DNAの個体における差異を変異と呼んだり多型と呼び生物種の個体差を理解するうえで重要です.

遺伝子の暗号部分の塩基置換などの変異は遺伝性の疾患を引き起こす原因となります. しかし, それがアミノ酸を置換をきたす変異であっても必ずしも病気とはならないことも知られています. 表現型の違いが生じる場合もあれば, そうでない変異があるのです. その意味では変異といういい方の意義も問われることとなります.

遺伝子領域での変異が著しく病的な結果をもたらさないものは, 集団の中で維持される (ABO血液型など) ことは多々あり, いわゆる個体差の内因そのものと考えられます.

DNA多型とはゲノム上にある塩基配列の多様性のことを言うもので, 遺伝子病の原因となる変異ではないものの, 個体差や体質の遺伝的素因となりえます.

集団内でアレル頻度が1%以上あれば“変異: mutation”ではなく“多型: polymorphism”という定義もありますが, むしろその表現型への影響からの定義も勘案して議論があるところです. 遺伝子の非コード領域や遺伝子以外の部分の塩基配列には幅広い個体差があり, 代々受け継がれます.