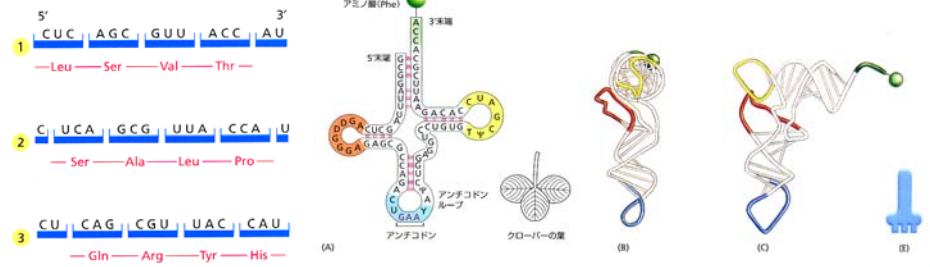


RNAからタンパク質へ

AGA	AGG	GGA	GGC	GGC	GCC	GCG	GCU	UUA	UUG	UUA	UUG	AGC	AGU	CCA	UCA	ACA	GUA	UAA												
GCA	CGA	GGC	GCC	GCG	GCU	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	CAG	GGU	CAU	AUA	CUC	CUU	AAA	AUG	UUC	CCG	CCG	UCU	ACU	UGG	UAC	GUG	GUU	UGA		
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	終止										
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	終止										

mRNAの塩基配列は、遺伝暗号を介してタンパク質のアミノ酸の配列へと翻訳される

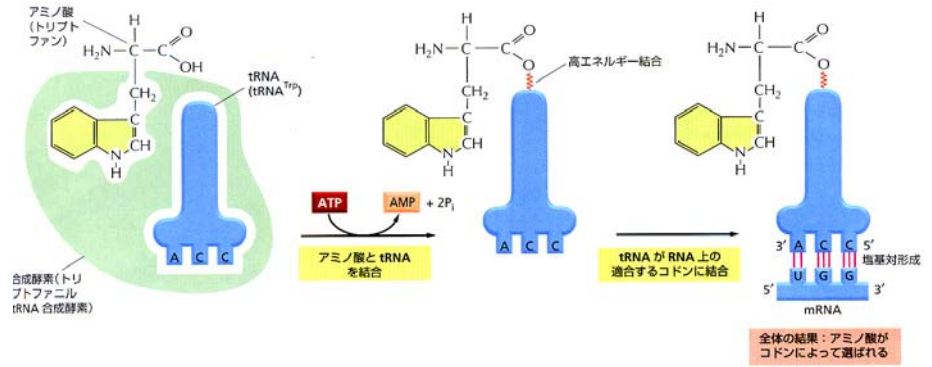


RNA分子は3通りの読み枠で翻訳できる

tRNAは、アミノ酸とコドンをつなげるアダプター分子である

(Ψ; プソイドウリジン、D; ジヒドロウリジン どちらもウラシルが化学修飾したもの)

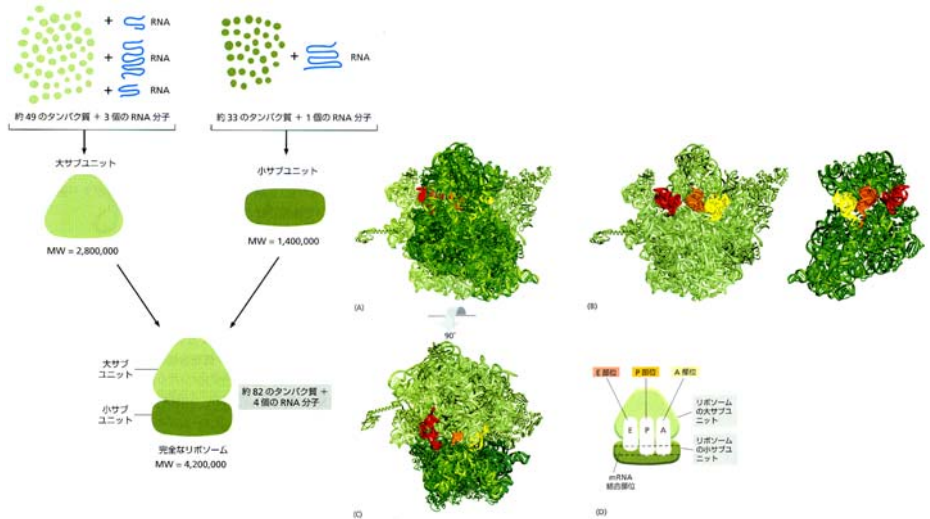
tRNAとアミノ酸の結合



アミノアシルtRNA合成酵素によって、アミノ酸とtRNAを結びつける。

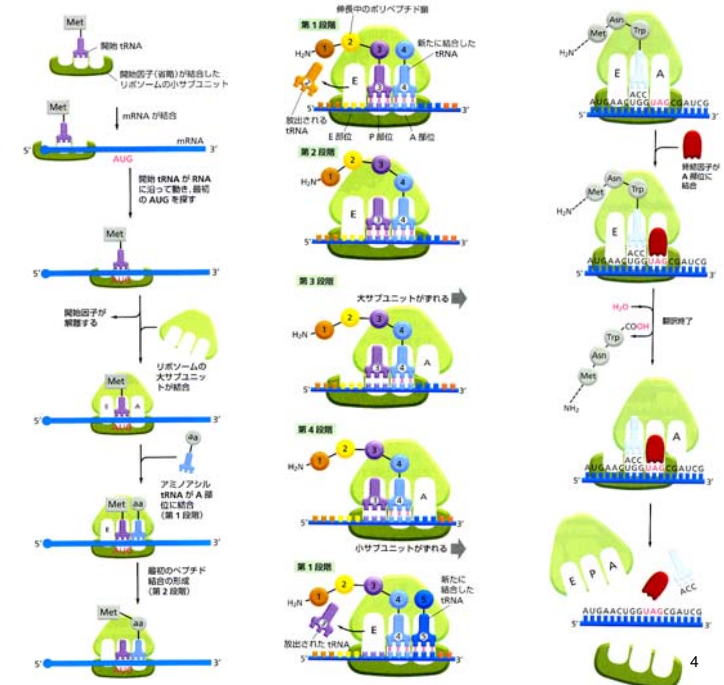
(20種類のアミノ酸をつけるため、20種類の酵素が存在する。)

リボソーム

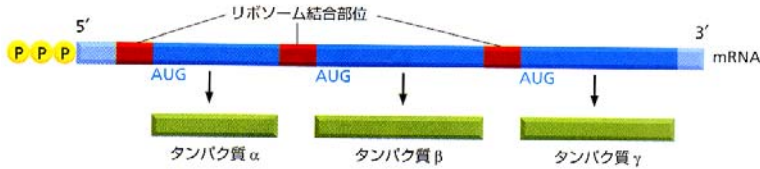


リボソームにはmRNA結合部位が1か所とtRNA結合部位が3か所ある

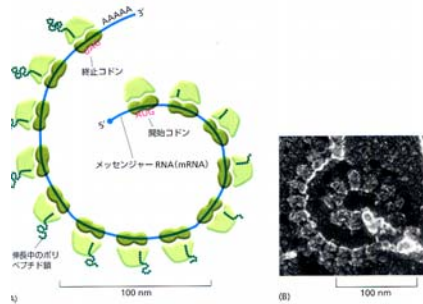
翻訳



翻訳の様子



原核生物のmRNAは1分子でいくつかの異なるタンパク質をコードしているものがある。



タンパク質はポリリボソームによって翻訳される。(真核生物・原核生物の両方で見られる)。

(3) コドン

アミノ酸をコードするコドンは、極わずかな例外を除いて、全ての生物で共通である。しかし、同一のアミノ酸をコードする場合にも、2~6のコドンが重複している場合があり、どのコドンがよく用いられるかは、各生物のDNAのGC含有量にしたがって、かなり偏っている。

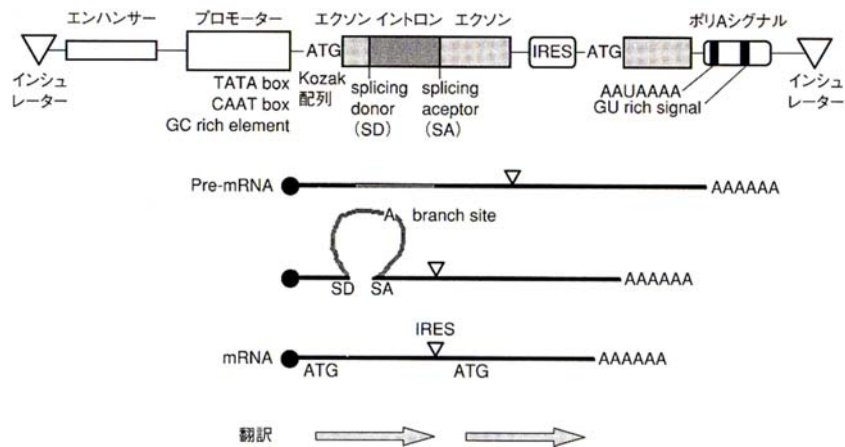
Codon usage

Expression_vector_pColEIII-BamHI-00001.gbk CDS's: 2 bases in CDS: 1,944 codons: 648

codon type: mRNA tRNA data type: Composition option: Amino Acid Composition

2nd	T	C	A	G
1st				
T	TTT 0.0571 TTC 0.1429 TTA 0.2391 TTG 0.1957	TCT 0.2093 TCC 0.1075 TCA 0.1042 TCG 0.1250	TAT 0.5000 TAC 0.5000 TAA 0.1667 TAG 0.0000	TGT 0.5000 TGC 0.5000 TGA 0.0000 TGG 1.0000
C	CTT 0.2391 CTC 0.1087 CTA 0.8333 CTG 0.0000	CCT 0.0714 CCC 0.3214 CCA 0.2057 CCG 0.3214	CAT 0.5000 CAC 0.5000 CAA 0.4085 CAG 0.5195	CGT 0.2388 CGC 0.4474 CGA 0.1578 CGG 0.0789
A	ATT 0.4444 ATC 0.3889 ATA 0.1667 ATG 1.0000	ACT 0.2308 ACC 0.3590 ACA 0.1202 ACG 0.2021	AAT 0.5000 AAC 0.5000 AAA 0.7273 AAG 0.2727	AGT 0.2093 AGC 0.1667 AGA 0.0789 AGG 0.0000
G	GTT 0.2600 GTC 0.2200 GTA 0.1800 GTC 0.3400	GCT 0.1528 GCC 0.3056 GCA 0.1806 GCG 0.3611	GAT 0.6384 GAC 0.3636 GAA 0.6000 GAG 0.4000	GGT 0.3256 GGC 0.2400 GGA 0.1163 GGG 0.2093

10.2 遺伝子発現のための基本単位—真核生物—



(1) 転写に必要なエレメント

RNAポリメラーゼ

RNAポリメラーゼ I ... 単一プロモーターを認識、rRNA前駆体を転写

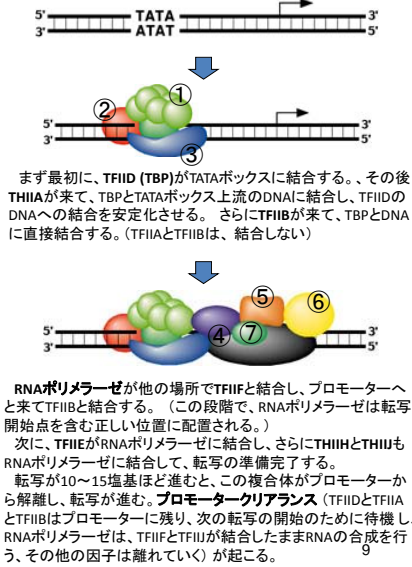
RNAポリメラーゼ II ... タンパク質をコードするmRNAを転写

RNAポリメラーゼ III ... 5S リボソームRNA、tRNAなどを転写

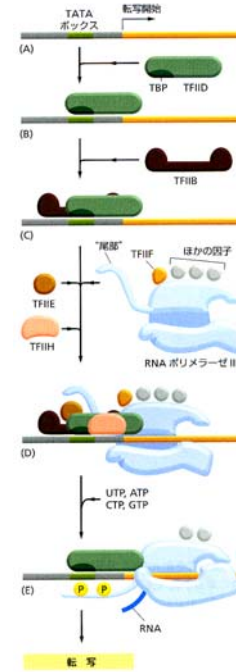
RNAポリメラーゼ II のプロモーター

5'TATA(A or T)A3' ... TATA box、転写開始点から約25塩基上流
 5'GGCCAATCT3' ... CAAT box、転写開始点から約90塩基上流
 エンハンサー ... 自身は転写活性を持たないものの様々な転写因子が結合することにより、近傍の転写開始エレメントの活性を増幅する。多くは遺伝子の5'側に見られるが、構造遺伝子の3'末端に位置するものもある。

真核生物の転写の準備



真核生物の転写



真核生物のRNAポリメラーゼIIは、転写開始に転写基本因子を必要とする。

(A)プロモーターにはTATAボックスという塩基配列がある。

(B)TFIIDのTBPがTATAボックスを認識して結合して、DNA構造を大きくゆがめる。

(C)TFIIDの横にTFIIBが結合する。

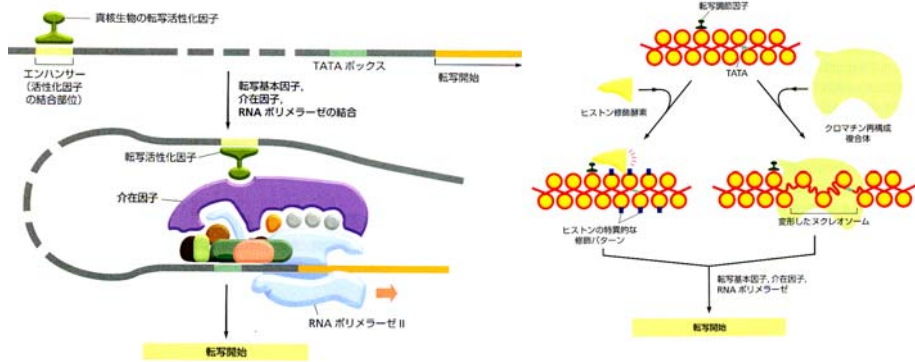
(D)残りの転写因子とRNAポリメラーゼIIがプロモーターに結合する。

(E)TFIIHがATPの加水分解のエネルギーを使って転写開始部位のDNA二本鎖を解離させ、鋳型鎖を露出させる。また、TFIIHがRNAポリメラーゼをリン酸化すると、ポリメラーゼは転写基本因子から離れて転写伸長期に入れる。リン酸化されるのは、ポリメラーゼ分子から長く突き出した尾部である。

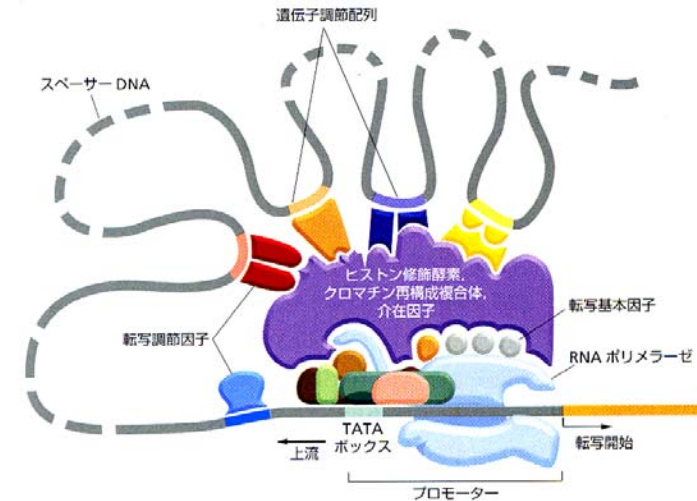
RNAポリメラーゼの種類	転写する遺伝子
RNAポリメラーゼI	大部分のrRNA
RNAポリメラーゼII	タンパク質をコードする遺伝子など
RNAポリメラーゼIII	tRNA遺伝子、5S rRNA遺伝子、低分子RNA遺伝子

TATAボックスに結合するTBP

真核生物の転写調節因子(エンハンサー)



真核生物の転写調節因子



<polyAの付加>

転写が終結したのちのmRNA前駆体: pre-mRNAには、ポリAシグナルにより約50~200のA (polyA)の付加がおこる

このとき、3'末端領域にある5'AAUAAA3'シグナルとGU-richシグナルの間でRNAが切断され、そこからpolyAの付加がおこる。このRNAの切断とpolyAの付加は、**polyAポリメラーゼ**が関与する。

<イントロンの除去>

Pre-mRNAのイントロンは、**スプライシング**で取り除かれる。

Splicing donor...イントロン5'末端側、(A or C)AG| GU(A or G)AG

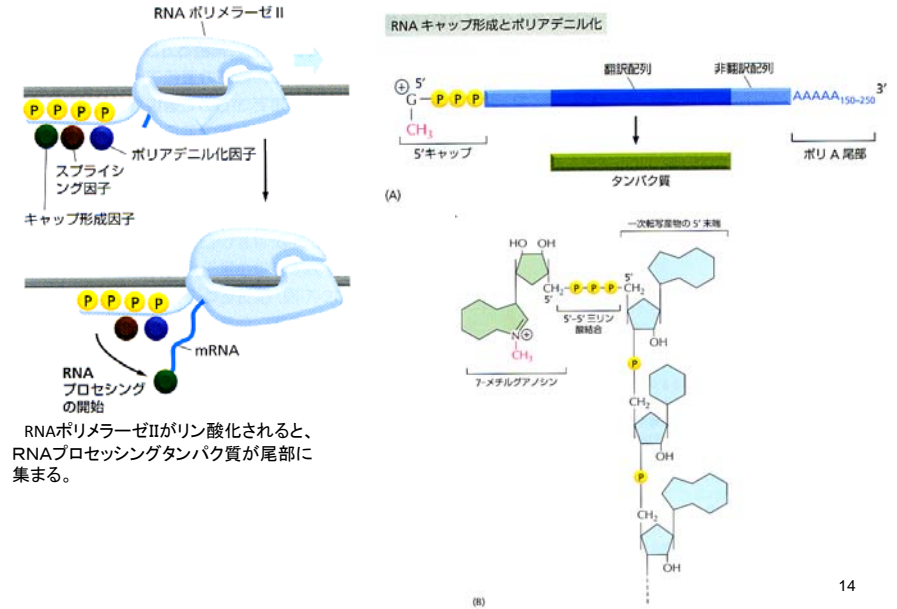
Branch site...イントロンの途中、CU(A or G)A(A or U)

Splicing acceptor...イントロン3'末端、ピリミジンrichな配列の後に、

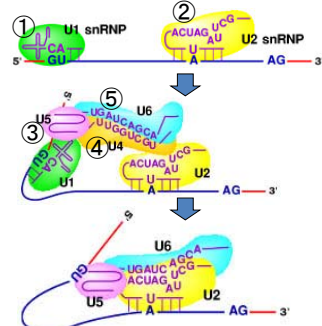
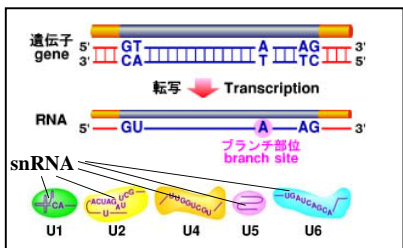
NCAG| G

スプライシングシグナルを導入することで、外来遺伝子のmRNAの安定性が向上する。

転写後修飾

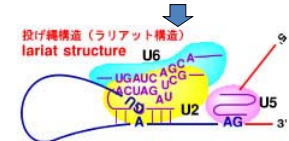


スプライシング

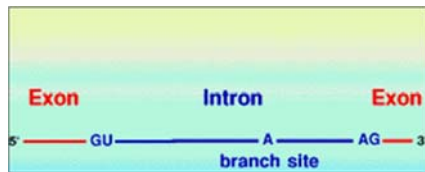


切り離されたエクソンは、U5 snRNPと結合したままであり、さらにU5 snRNPは、イントロン3'末端のAG配列にも結合して、最終的にエクソン同士が結合する。

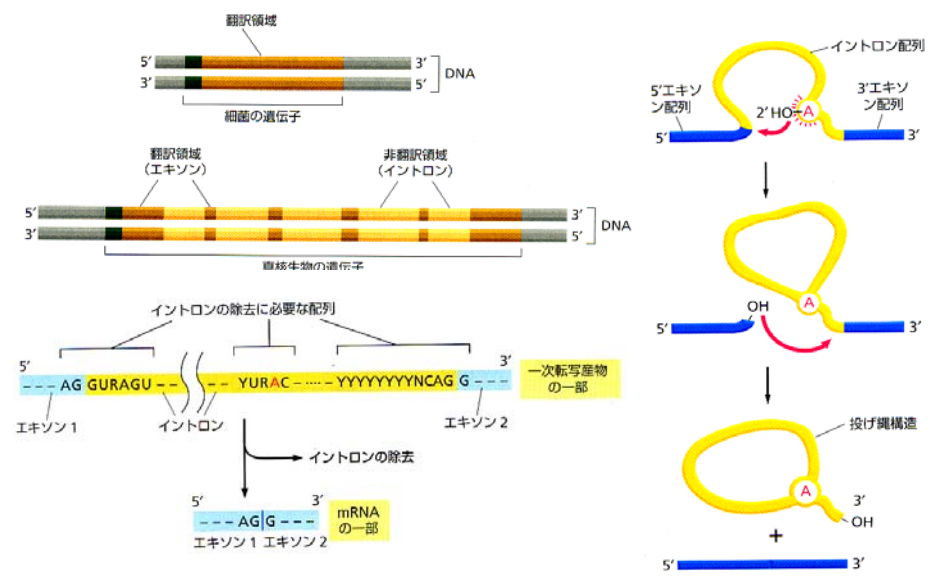
まず、U1 snRNPが放出され、イントロン5'末端のGU配列が開放される。すると、その他のU5やU6 snRNPがこのGU配列に近づいてくる。U4 snRNPが放出されると、U6 snRNPはU2 snRNPにつく。



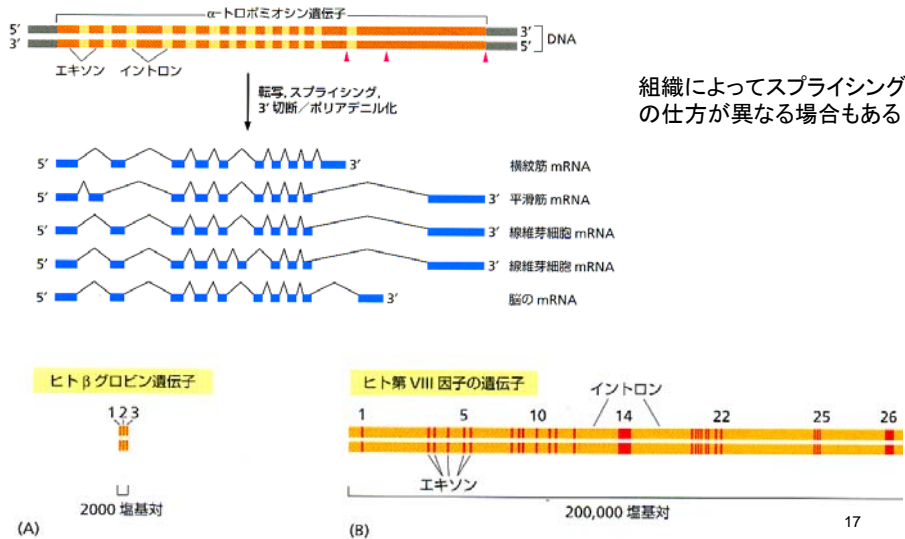
U6 snRNPは塩基対を利用してイントロン5'末端のGU配列とも結合する。そして、U2/U6がGU配列の5'側でmRNAを切断し、GU配列のG塩基をbranch site中のA塩基と結合させる。



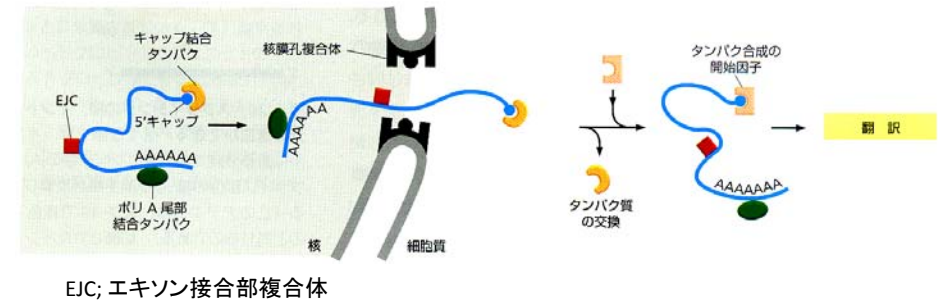
スプライシング



スプライシング2



mRNAの運搬



18

(2) 翻訳に必要なエレメント

<Kozak配列>

真核生物の開始コドン周辺の塩基は、**コザック(Kozak)**によって一定の法則があることが明らかになっている。

最も強力な開始コドンの周辺配列は、

5'-CC(A or G)CC**ATG**G-3'

開始コドンのAから-3位のプリン塩基、+4のGが重要

上流に強力なATGがある場合、これが優先されるので、取り除く必要がある。

<IRES (Internal Ribosome Entry Site)>

ポリオウイルスに感染した細胞では、途中にあるATGからでもタンパク質への翻訳が可能になる。途中のATGから翻訳する際に、リボソームRNAが結合できるmRNAの高次構造を形成できる配列をIRESという。他のウイルスでも徐々に、IRES配列が決定されつつある。

19

(3) インシュレーター

目的遺伝子を真核生物のゲノムに組み込んで、恒常的な発現あるいは誘導発現を目指しても、組み込まれた場所によって発現の強弱がある場合や、有効な誘導発現ができない場合がある。この現象を位置効果(position-effect)という。

組み込まれた遺伝子の発現が、近傍の様々な遺伝子発現制御エレメントに影響されることに理由があると考えられる。

これを防ぐためには...

インシュレーターを目的遺伝子の両端に導入して、導入された場所の近傍の様々な遺伝子発現制御エレメントの影響を抑制する。

インシュレーターは、クロマチンのループの境界に見つかるエレメントであり、クロマチン境界を形成して隣接する遺伝子エレメントによる発現への影響をなくし、各クロマチン領域を機能的に独立させていると考えられている。

インシュレーターの働きにより、導入した遺伝子が独立した発現ユニットとして機能できることが期待できる。

20