

第1部 6 ゲノム情報の読み取り(前半 P.300-335)

1. DNA から RNA へ

ほとんどの多細胞生物のゲノムはとても不規則である。ゲノム DNA はタンパク合成自体には直接指示を出さず、RNA を仲介役として使う。転写 transcription 翻訳 translation. あらゆる細胞は遺伝情報をこの向きで発現する。(これはとても根本的な原理で分子生物学のセントラルドグマと呼ばれる。)しかし DNA からタンパク質への流れには重要な違いがいくつかある。真核生物のプロセッシングなどである。また遺伝子の一部には RNA を最終産物にするものがある。このような RNA はタンパクと似て、3次元構造を取り、細胞内で構造物や触媒として働く。

DNA と RNA の違い

RNA のヌクレオチド(単量体)はリボヌクレオチド ribonucleotide で、それは糖がリボースである。塩基が AGCU である。そして最も大きな違いは RNA が 2重らせんを作らず、1本鎖であることである。

細胞内の RNA は転写 transcription によって作られる。転写産物 RNA の塩基配列は鋳型となった DNA と完全に相補的になる。しかし転写はいくつか重要な点で DNA 複製との違いがある。新たに合成された RNA 鎖は鋳型からリボヌクレオチドの付加した部分のすぐ後ろで鋳型鎖から離れる。しかも DNA の一部だけなので DNA 分子よりはるかに短い。

転写酵素 RNA ポリメラーゼ RNA polymerase は DNA ポリメラーゼと同様、核酸-エステル結合(リン酸と糖の結合)を作ってヌクレオチドをつなぎ、線状分子を作る。RNA ポリメラーゼは DNA に沿って、その 2重らせんをほどこきながら少しずつ進み、開いた部分を鋳型にして相補的塩基対を作り重合反応を行う。こうして RNA は 5' 3'方向にヌクレオチド単位でのびていく。反応の材料はヌクレオチド 3リン酸(ATP, GTP など)である。ここでヌクレオチドとは糖と塩基の結合したもので、これに 1個以上のリン酸が結合するとヌクレオチドになる。これらの高エネルギーリン酸結合を加水分解してエネルギーを得る。RNA ポリメラーゼと DNA ポリメラーゼの違いで最も大きなものは、つなぎ合わせるものがデオキシリボヌクレオチドではなくリボヌクレオチドであることである。またプライマーなしで合成を始められるところも違う。また RNA ポリメラーゼは DNA ポリメラーゼより正確ではなく、誤りの起こる

確率

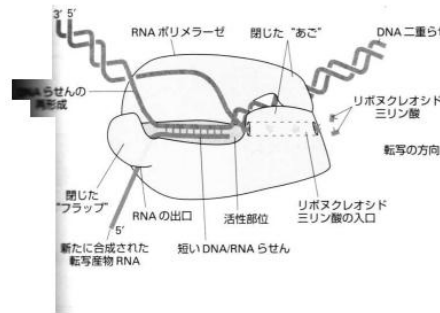
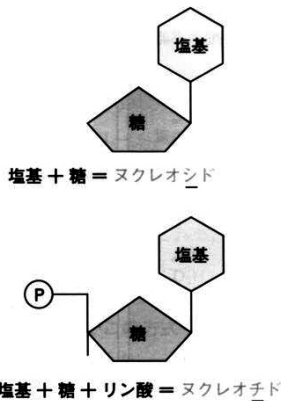


Fig. 6-8 DNAをRNAポリメラーゼが転写する。RNAポリメラーゼ(水色)は、DNAに沿って少しずつ動きながら活性部位でDNAのらせんをほどこき、重合部位でDNA鎖を鋳型にしてRNA鎖にヌクレオチド(小さいT字形で示す)を1個ずつ付加していく。したがって転写産物のRNAは、DNAの二本鎖の一方を相補的に写し取った一本鎖となる。ポリメラーゼには突出部(Fig. 6-11参照)があって新たに合成したRNA鎖を解離させるので、2本のDNA鎖はポリメラーゼのうしろでふたたび二本鎖に戻る。つまり短いDNA/RNAらせん(長さ約9ヌクレオチド)の形成は一過性で、DNA/RNAらせんを含む'窓'はDNA鎖に沿って移動する。取り込まれるのはリボヌクレオチド三リン酸(ATP, UTP, CTP, GTP)で、そのリン酸-リン酸結合がもつエネルギーが重合反応の駆動力となる(Fig. 5-4参照)。(Robert Landick提供の図より改作)

が高い。

RNA の種類

遺伝子の北極でタンパク合成を指令する RNA をメッセンジャー RNA messenger RNA という。しかし一部の遺伝子は RNA 自体が最終産物となる。このような RNA はタンパクと似て、細胞内で構造物の成分としてや触媒として働く。mRNA 前駆体から、スプライシングをして mRNA を作る核内低分子 RNA small nuclear RNA, snRNA. リボソームの中心部を作るリボソーム RNA ribosomal RNA, rRNA. 必要なアミノ酸を選んでリボソームに運び込み、タンパク質に取り込ませる運搬 RNA transfer RNA, tRNA. などがあり、これらを見ていく。転写される DNA 領域を転写単位といい、真核生物では転写単位 1 この情報が遺伝子 1 個分で、ここからは 1 個の RNA 分子や 1 個のタンパク分子を指令する。細菌では隣接する一連の遺伝子群が 1 個の単位として転写されることが多く、生じる mRNA 分

子はいくつかのタンパク質の情報を持っている。

. DNA から RNA 前駆体まで

プロモーター、ターミネーター

DNA には RNA ポリメラーゼが反応を始める、終える場所を指示するシグナルがある。RNA ポリメラーゼが反応を始める、終える場所を知る方法は細菌と真核生物では少し違っている。

細菌の RNA ポリメラーゼは多数のサブユニットの集合体で、転写開始のシグナルを読み取るのは主に因子 sigma factor という取り外し可能なサブユニットの役割である。RNA ポリメラーゼは DNA にぶつかると弱く結合し DNA に沿って滑り始める。そして RNA 合成開始点を示す一連の塩基配列 = プロモーター promoter 領域に出会うと強く結合する。プロモーター DNA に接触し強く結合した RNA ポリメラーゼは、先頭部分で二重らせんを開く。ここでは ATP 加水分解のエネルギーは必要なく、かわりにポリメラーゼと DNA の両方が可逆的な構造変化を起こし、エネルギー的に有利な状態をとる。DNA の二重らせんをほどくと、一方を鋳型として相補的な塩基対を作る。ポリメラーゼははじめはゆっくりと相補塩基を作るが、10 塩基ほど作ると 因子を遊離し、ポリメラーゼの構造を変えて素早く転写出来るようになる。RNA ポリメラーゼはこの速度で RNA 鎖を作り続け、第 2 のシグナル ターミネーター terminator に出会うとそこで止まり、DNA 鋳型鎖と新生 RNA を離す。ターミネーター部位で DNA から離れたポリメラーゼは遊離していた 因子と再結合し、次のプロモーターを探して再び転写を始める。

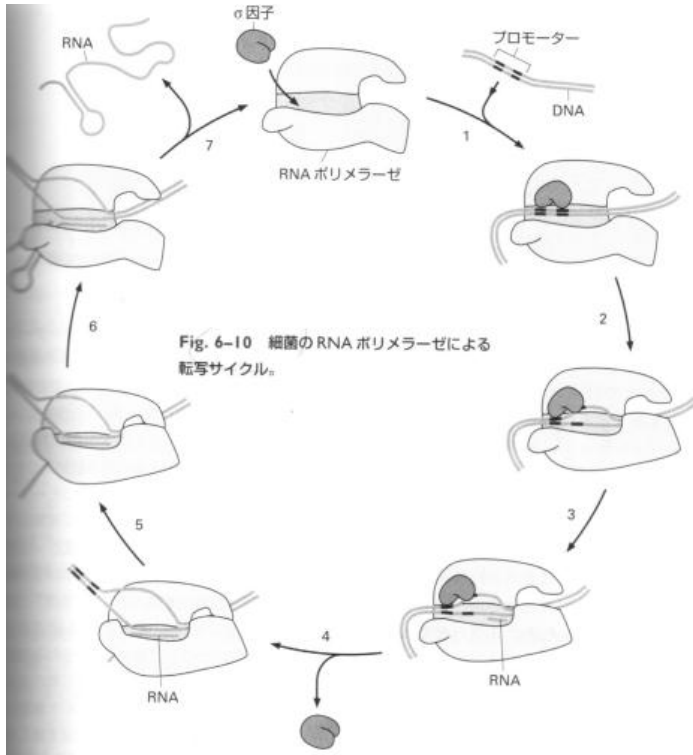
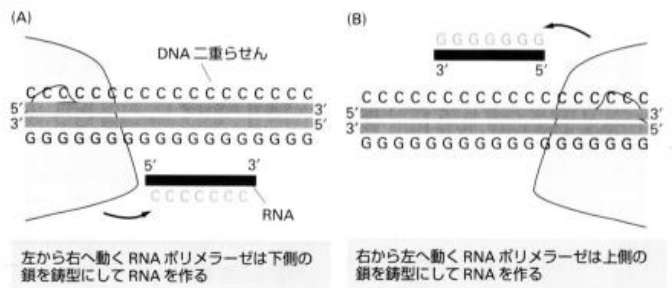


Fig. 6-10 細菌の RNA ポリメラーゼによる転写サイクル。

Fig. 6-13 RNAポリメラーゼの向き的重要性。Fig. 6-9に示すように、鋳型として働く DNA 鎖はつねに 3' から 5' 側へと読まれる。そこで (A) と (B) に示すように、RNA ポリメラーゼの動く向きによって、DNA 二本鎖のどちらが RNA 合成の鋳型になるかが決まる。ポリメラーゼの向きは、転写を開始する場所であるプロモーター配列の向きによって決定されている。



左から右へ動く RNA ポリメラーゼは下側の鎖を鋳型にして RNA を作る

右から左へ動く RNA ポリメラーゼは上側の鎖を鋳型にして RNA を作る

プロモーター、ターミネーターの塩基配列は細菌ごとに違う。この理由の1つはプロモーターの強度、単位時間あたりに転写開始が起こる回数が配列によって厳密に決まるからである。つまり進化の過程で、各プロモーターは必要な頻度で転写を開始するように精密に調整され、強いものから弱いものまで様々なプロモーターが生じた。

プロモーターは遺伝子1個につきプロモーターを1個持つ。原理的には2本の鎖をそれぞれ鋳型にして2種類のRNA分子が転写できるが、プロモーターを2本鎖DNAの形で読み取るため5' 3'方向にしか合成できないポリマーゼはどちら一方の向きにしか結合できない。どちらのDNAを鋳型にするかはプロモーターの位置と向きによって決まる。図6-13 参照

### 真核生物の転写開始

真核生物の核には、細菌と違い、RNAポリマーゼⅠ、RNAポリマーゼⅡ、RNAポリマーゼⅢの3種類のポリマーゼがあり、構造は互いによく似ているが転写する遺伝子群が違う。RNAポリマーゼⅠ、RNAポリマーゼⅡはtRNA、rRNAなどの低分子RNAの遺伝子を転写するが、RNAポリマーゼⅢはタンパク質指令遺伝子全てとsnRNAを転写する。

RNAポリマーゼⅡは細菌のRNAポリマーゼと似ているところもあるが、違うところもあり、特に次の2つは重要である。

・細菌のRNAポリマーゼはタンパク質なしでも転写を開始できるが、真核生物のRNAポリマーゼは転写基本因子 general transcription factor と呼ばれる多数のタンパク質群がポリマーゼとともにプロモーターに結合して初めて転写を開始できる。

・真核生物は転写開始の際に細菌ないヌクレオソームやコア構造をとっているにしなければならない。

#### ヌクレオソーム nucleosome

真核生物の染色体のビーズ状の構造単位で、ヒストンタンパク質のコアのまわりに短いDNAが巻きついたもの、クロマチンの基本的な単位。



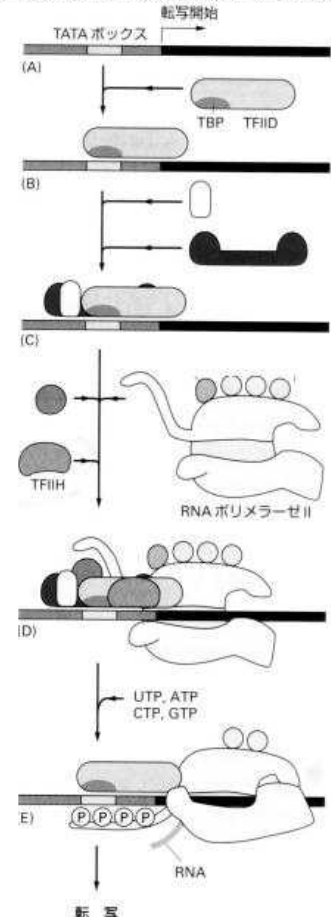
の染色体にはDNAを対象

### 転写基本因子 general transcription factor

真核生物のRNAポリマーゼは転写基本因子 general transcription factor と呼ばれる多数のタンパク質群がポリマーゼとともにプロモーターに結合して初めて転写を開始できる。これはRNAポリマーゼがプロモーターに正しく結合するのを助け、DNAの二重らせんをほどいて転写を始められるようにし、転写開始後はポリマーゼをプロモーターから離す働きをする。これらは互いに相互作用する一群のタンパク質で、RNAポリマーゼの転写因子という意味でTFと名付けられた。広い意味ではこれらは細菌の因子に相当する。

Fig6-16にDNAポリマーゼが利用するプロモーターに転写基本因子が会合する様子を示す。会合は二重らせんDNAに転写基本因子TFIIDが結合するところから始まる。この配列は主としてTとAからなるのでTATA配列 TATA box と呼ばれる。RNAポリマーゼのプロモーターにとってこの配列が最も重要である。TFIIDの結合によってTATA boxのDNAには大き

Fig. 6-16 真核生物遺伝子のRNAポリマーゼIIによる転写開始。



なゆがみが生じ、これが巨大なゲムの中で活性なプロモーターの位置を示す目印となる。また個のゆがみによって、タンパク質が次々集合できるようになり、転写開始複合体 transcription initiation complex が完成する。

プロモーター-DNA に引き寄せられて転写開始複合体を形成した RNA ホリメラーゼは続いて転写開始部位の鋳型鎖に接触しなければならない。これを助けるのは DNA ヘルパー(DNA ラせんをほどいて1本鎖にする酵素)をもつ転写基本因子 TF H である。RNA ホリメラーゼは細菌と同様、プロモーターの結合したまま短い RNA を合成するうちに立体構造が変化し、プロモーターから解離して遺伝子の転写を開始する。この解離の鍵となるのは RNA ホリメラーゼの C 末端へのリン酸基の付加である。このリン酸化も TF H が触媒する。次にホリメラーゼは転写基本因子群から離れて構造変化を経て DNA との結合を強め、さらに新たなタンパク質が加わると、長い間 DNA から解離せずに転写を続けられるようになる。RNA ホリメラーゼが転写産物 RNA をのばし始めると、ほとんどの転写基本因子は DNA から離れ、別の RNA ホリメラーゼと一緒に次々の転写開始に利用される。

今までの転写開始モデルはある程度単純化したものであり、真核細胞の DNA はヌクレオソームを形成し、コマ形構造をとっているので実際はもっと複雑で多くのタンパク質を必要とする。まず、転写活性化因子 transcriptional activator と呼ばれる遺伝子調節タンパクが DNA の特異的配列に結合し、RNA ホリメラーゼを転写開始部位へと引きつける。そのほか、転写開始にはメディエーター mediator と呼ばれるタンパク複合体が必要である。これは転写活性化タンパクと、RNA ホリメラーゼや転写基本因子群との適切な連携に役立つ。最後に、コマ形修飾酵素の動員が必要になることが多い。その働きによって転写開始装置が DNA に結合しやすくなるからである。

伸長因子 elongation factor

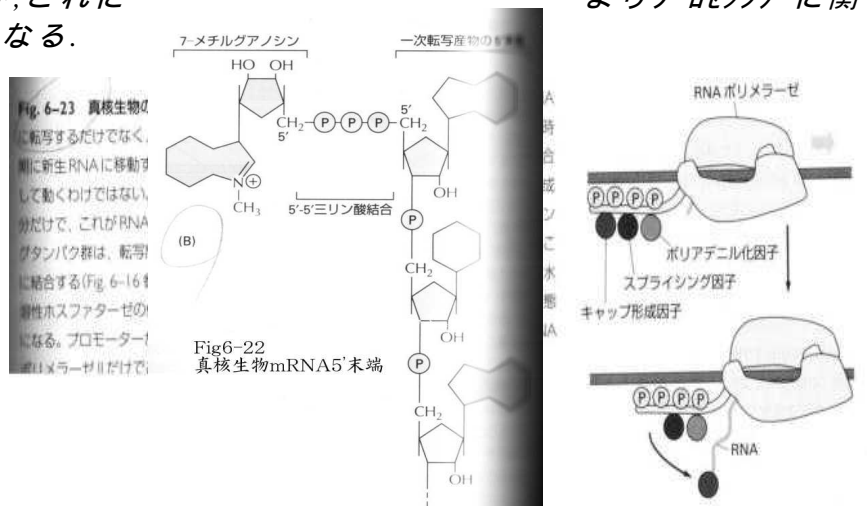
細菌でも真核生物でも伸長反応を進めている RNA ホリメラーゼは一群の伸長因子 elongation factor と結合している。この因子は RNA ホリメラーゼが遺伝子末端までいかないうちに離れてしまわないようにしている。

mRNA 前駆体から mRNA へ

細菌の mRNA はゲム上の特定の場所から動き始め、決まった場所で止まる RNA ホリメラーゼの働きだけで合成される。しかし真核生物では転写は一連の反応の第 1 段階にすぎない。この後、RNA の両端の共有結合による修飾や、転写産物 RNA の途中からイントロン intron sequence を取り除く RNA スプライシング RNA splicing などが起こる。これらの加工を経て初めて mRNA と呼ばれる RNA になる。真核生物の mRNA 末端の修飾は 5'末端のキャップ形成 capping と 3'末端のポリアダニル化 polyadenylation である。この印によって細胞は mRNA 分子に両端がそろっているか、mRNA 前駆体は完成しているか、を判断して書くから運び出し、タンパク質に翻訳できる。真核生物の遺伝子はタンパクを指令する複数の短いエクソン exon を長いイントロン intron が隔てていて RNA スプライシングで分かれたタンパク質コード領域をつなぎ合わせる。つまり、同じ遺伝子からいくつかの異なるタンパク質を合成できる。

前述のように RNA ホリメラーゼは、C 末端がリン酸化することで転写基本因子を離し高速に転写できるようになる(転写伸長モード)が、これに  
よりプロセッシングに関わる他のタンパク質も結合できるようになる。

つまり伸長状態の RNA ホリメラーゼは DNA から mRNA 前駆体への転写と、作った mRNA 前駆体のプロセッシングの両方を行える。



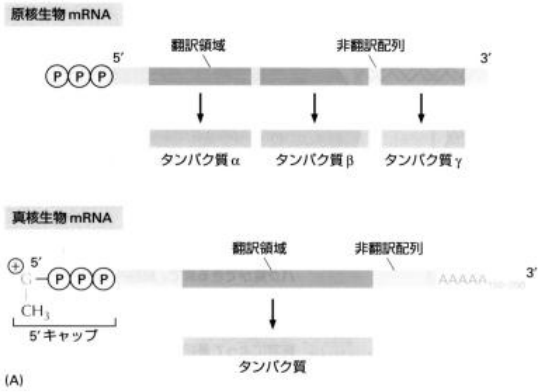


Fig. 6-22 原核生物と真核生物の mRNA の構造の比較。(A)細菌の mRNA の 5' 末端と 3' 末端は、RNA ポリメラーゼが合成を始め、終了したときのままで修飾はない。真核生物の mRNA の場合は、5' 末端はキャップ構造の付加、3' 末端は mRNA 前駆体の切断とポリ A 尾部の付加によって修飾されている。図には、それ以外にも原核生物 mRNA と真核生物 mRNA の違いを示してある。細菌の mRNA には複数の異なるタンパク質の製造指令が含まれている場合があるのに対し、真核生物の mRNA はほとんどの場合、1 個のタンパク質の情報しか含まない。(B) 真核生物 mRNA の 5' 末端のキャップ構造。7-メチルグアノシンが、通常にはない 5'-5' 結合をしていることに注意。真核生物 mRNA では、このほかに、2 番目のリボースの 2'-ヒドロキシル基がメチル化されていることが多い(図には示していない)。

### mRNA のキャップ形成

RNA ポリメラーゼ は mRNA を 25 塩基合成するとすぐに新生 RNA 分子の 5' 末端にグアノシレオチドからなるキャップを付加する。5'メチル化キャップは真核生物の mRNA の 5' 末端を示す目印で、細胞内にある他の RNA との識別に使われる。ちなみに RNA ポリメラーゼとが合成する RNA にはキャップがない。

イントロンとエキソンはともに mRNA 前駆体に転写され、それから RNA スプライシング RNA splicing によってイントロンが取り除かれる。スプライシング反応 1 回につき、リン酸期転移反応が 2 回連続して起こってエキソン 2 個が連結され、イントロンは投げ縄構造になって取り除かれる。

イントロンはなぜ存在するか。1 つには異なる遺伝子のエキソンを組み合わせ、新たなタンパクを作るよう進化しやすい。また 1 この遺伝子から何種類ものタンパクを作り出すためにも重要だからである。

RNA スプライシングでは、mRNA 生成の他の反応とは違い、タンパク酵素ではなく RNA 分子がイントロンとエキソンの境界を識別する。この RNA 分子は比較的短く 5 種類あるが、これらは核内低分子 RNA snRNA small nuclear RNA と呼ばれ、それぞれがタンパク質と複合体を形成し、核内低分子リボ核タンパク snRNP となる。snRNP を核にして RNA とタンパクの大型複合体、スプライソソーム spliceosome が形成される。イントロンは 5' スプライス部位、3' スプライス部位、投げ縄の結び目の分岐点の 3 か所の遺伝子から判断されるが、3 か所の部位と snRNA との塩基対形成で判断される。スプライシングの過程でスプライソソームには変化が起こり、そのたびにイントロンの塩基対を再編成する。これを RNA-RNA 再編成という。

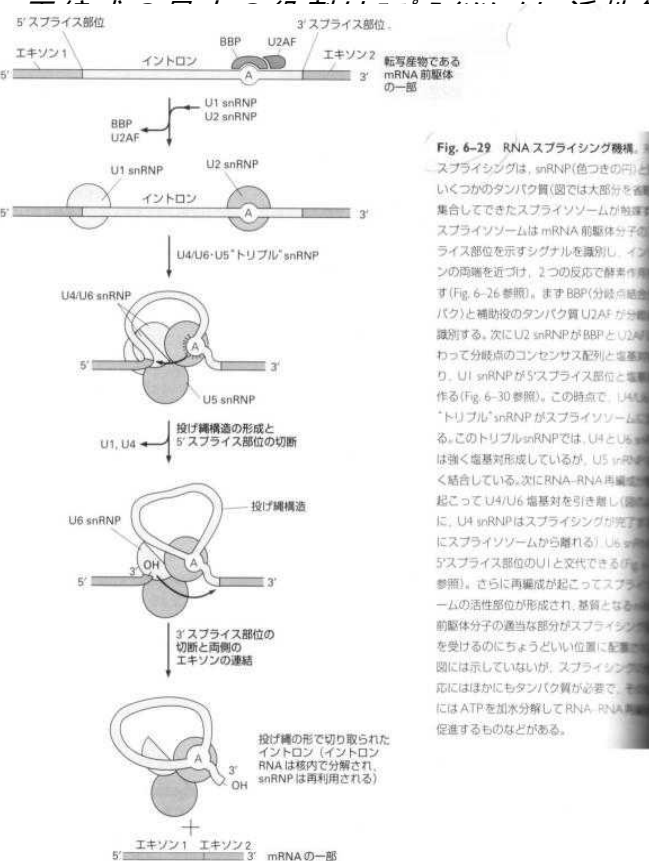


Fig. 6-29 RNA スプライシング機構。スプライシングは、snRNP(色つきの円)といくつかのタンパク質(図では大部分を省略)を集めてきたスプライソソームが特異的にスプライソソームは mRNA 前駆体分子のプライス部位を示す信号を識別し、イントロンの両端を近づけ、2 つの反応で酵素作用す(Fig. 6-26 参照)。まず BBP(分岐点結合)と補助役のタンパク質 U2AF が分岐点を識別する。次に U2 snRNP が BBP と U2AF をつなぐ。U1 snRNP が 5' スプライス部位と塩基対形成(図 6-30 参照)。この時点で、U4/U5-U6 トリプル snRNP がスプライソソームに入る。このトリプル snRNP では、U4 と U5 snRNA は強く塩基対形成しているが、U5 snRNA は U6 snRNA と結合している。次に RNA-RNA 再編成が起こって U4/U6 塩基対を引き離し(図 6-31 参照)、U4 snRNP はスプライシングが完了後にスプライソソームから離れる(右)。U6 snRNA が 5' スプライス部位の U1 と交代できる(図 6-32 参照)。さらに再編成が起こってスプライソソームの活性部位が形成され、基質となる mRNA 前駆体分子の適当な部分がスプライシングを受けると同時にちょうどいい位置に配置される(図には示していないが、スプライシング反応にはほかにもタンパク質が必要で、その中には ATP を加水分解して RNA-RNA 再編成を促進するものなどがある)。

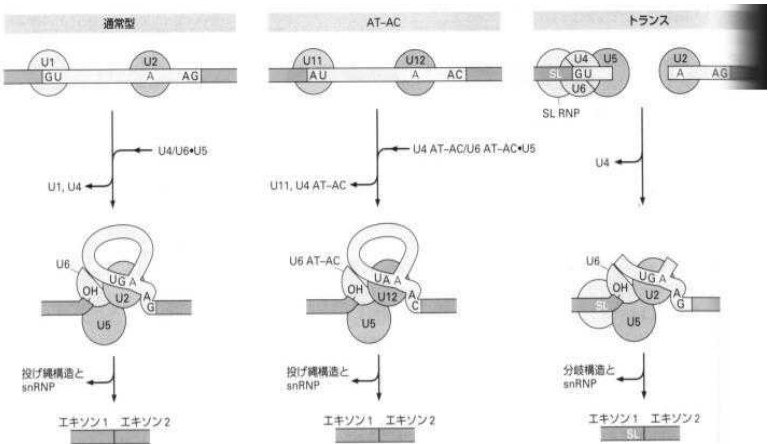


Fig. 6-34 3 種類の RNA スプライシング機構のあらまし。(A) 3 種類のスプライシングの通常のスプライソソーム(左)、AT-AC スプライソソーム(中央)、トランススプライソソーム(右)の形成を 2 段階で示す。3 種類にも共通成分は U5 snRNP だけである。AT-AC スプライソソームが除去するイントロンは、通常スプライソソームの場合とはコンセンサス配列が異なる。ヒトでは AT-AC スプライソソームが除去するイントロンは、通常スプライソソームの場合とはコンセンサス配列が異なる。トランススプライシングの反応で snRNP は、一部が成熟 mRNA の最終成分になるために消費されてしまう。U4, U5, U6 snRNP と U6 AT-AC snRNP はどちらも 5' スプライス部位を識別するが、そのための塩基対は異なる。図に示す配列はヒトのものである。(Y. T. Yu et al., The RNA World, 487-524 より改作。Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)。

## 第2の snRNP

動物や植物などのもっと複雑な真核生物は、別の snRNP 群を持ち、これもイントロンのスプライシングを行う。イントロンとエキソンの境界を識別する配列も通常のスプライソームと異なり、AT-AT スプライソーム AT-AT spliceosome という。このスプライソームの RNA-RNA 再編成通常の場合と同じである。

またトランススプライシング trans-splicing という特殊なスプライシングも見つかっている。これは2個の RNA のエキソンをつなげて1本にする。

## 柔軟性

スプライス部位の選択には3か所のシグナル(5'スプライス部位, 3'スプライス部位, 投げ縄の結び目の分岐点)とスプライス装置の親和性やエキソンの長さや塩基配列, スプライソーム形成の正確性が重要である。が同時にこの選択は柔軟性もある。あるイントロンのシグナルに変異が起きても、それをシグナルとしてきちんと認識するのだ。

またこの柔軟性は言い換えればその遺伝子がどれほどタフにしやすいかでもある。各タフの必要に応じて柔軟性も調節されている。

なぜスプライシング反応はタフでなく RNA が行っているか。それは昔の細胞は触媒に RNA を利用し、遺伝情報も RNA に保存していた。この細胞は自分の RNA をタフになしでもスプライシングを行っていた。(自己スプライシング self-splicing) スプライシング反応を RNA が行っているのはこの名残であるらしい。

## mRNA の 3'末端シグナル

mRNA の 3'末端を指定するシグナルはゲノム DNA に書き込まれていて、RNA ポリメラーゼによって RNA へと転写され、RNA 結合タンパクと RNA プロセッシング酵素によって識別される。特に CstF(切断促進因子 F)と CPSF(切断ホリアデニル化(3'末端修飾)特異因子)と呼ばれる2つのサブユニットタンパクは重要で、ポリメラーゼから RNA に移って結合し、さらにタンパク質が結合して、3'末端を作る。できた 3'末端にポリ A ポリメラーゼが A ヌクレオチドを約 200 個付加する。そして RNA ポリメラーゼは鋳型を離し、転写を終える。

## mRNA プロセッシング後 完成 mRNA とゴミの区別

mRNA は核から細胞質へと運ばれ、そこでタンパク質へと翻訳されるが、このときの輸送で完成 mRNA がそうでないかを選択する。

mRNA は前駆体合成やプロセッシングの際に様々なタンパクが結合するが、完成している状態はそれらが全てとれ、キャップ結合複合体などのタンパクが結合している状態を持って判断される。完成と判断されたときのみ、mRNA は核膜孔複合体 nuclear pore complex を通って細胞質へと運ばれる。核膜孔複合体は核膜にある水を通すチャネルであるが、スプライシング完了のシグナルを持つものには核外搬出因子として働く。

この後のタンパクへの合成過程は木曜日に

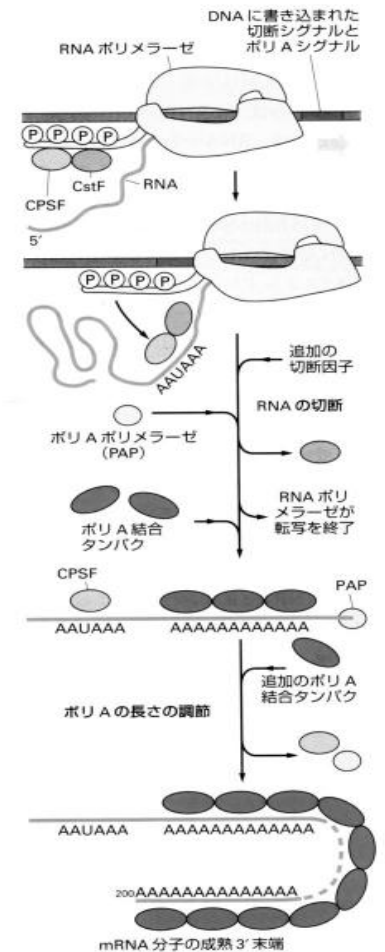


Fig. 6-38 真核生物の mRNA の 3'末端を作るためのおもな反応。これに相当する細菌の機構では、RNAポリメラーゼが終結シグナルで転写をやめ、転写産物の 3'末端と DNA 鋳型から離れるだけだが(Fig. 6-10参照)、こちらはそれよりもはるかに複雑である。

### 非翻訳 RNA

RNAのうち、翻訳し、タンパクに合成されるのはごく一部で多くは翻訳されないまま構造的な役割や触媒機能を果たす。最も多いのはリボソームRNA rRNA でこれがRNAの芯になる。真核生物ではrRNAを生産するのはそれ専門の酵素RNAポリメラーゼである。真核生物rRNAは4種類(18s 5.8s 28s 5s)ある。rRNA前駆体からrRNAが作られるまでにもいろいろな化学修飾が施される。化学修飾の位置を案内するRNAもありそれらは核小体低分子RNA small nucleolar RNA と呼ばれる。

### 核小体

核小体はrRNA前駆体のプロセッシングとリボソームへの組み込みを行う。他の小器官とは違い膜に囲まれていず、巨大分子が集まって大型凝集体を作っている。また、他のRNAやRNAタンパク複合体が組み立てられる。つまり様々な非翻訳RNAを処理してタンパク質と結合させ、いろいろなリボ核タンパク複合体を作る装置である。

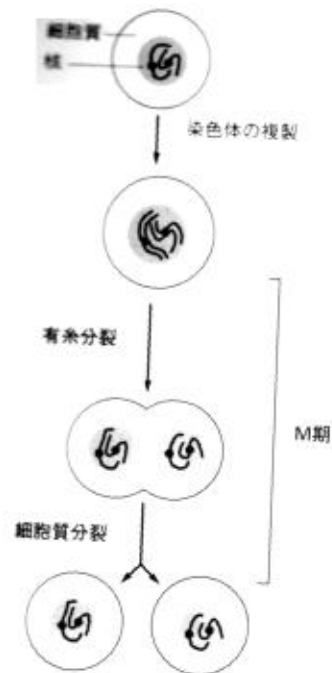
### 様々な核内構造

核内で最も目立つ構造は核小体だが、それ以外にもいくつかの小構造がある。これらの副次構造はRNAプロセッシングに重要である。核はいくつかの領域に分かれ整然とした構成を持ち、その間をsnRNP, snoRNP, などが秩序正しく移動していると考えられる。

参考文献 細胞の分子生物学 Newton Press

### 有糸分裂 mitosis

真核細胞の核の分裂で、その際DNAは凝縮して、目に見える染色体となる。(ギリシャ語のmitos“糸”に由来。凝縮した染色体が糸のように見えることから。)



細胞周期のM期。M期は核分裂とこれ続く細胞質分裂とからなる。