

遺伝子は体のどこにある？

遺伝子は細胞の中にある

遺伝子は細胞内の核にある

遺伝子は核の中の染色体に存在している

遺伝子は染色体を構成するDNA分子の中の特定の領域にある

遺伝子は何でできていて、
どんな形をしているのですか？



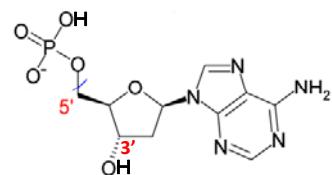
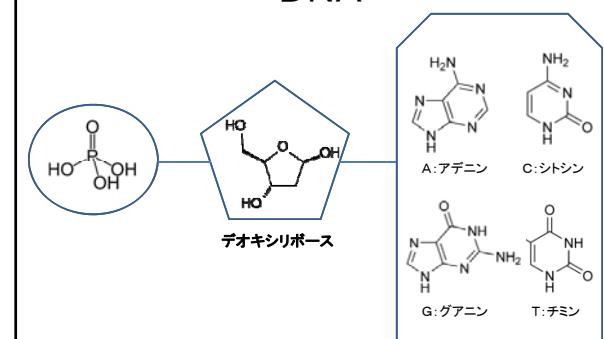
遺伝子の本体

DNA(デオキシリボ核酸)

DNA

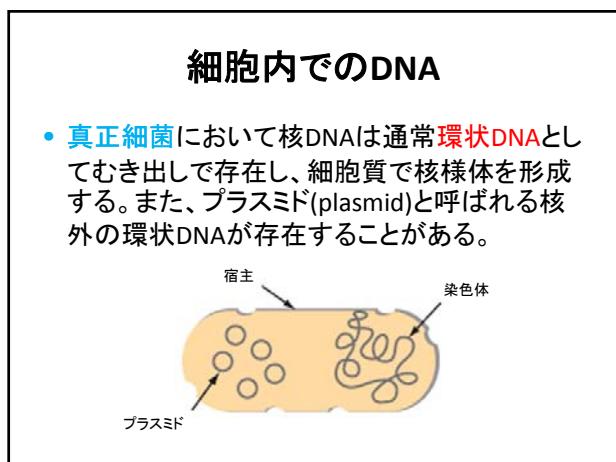
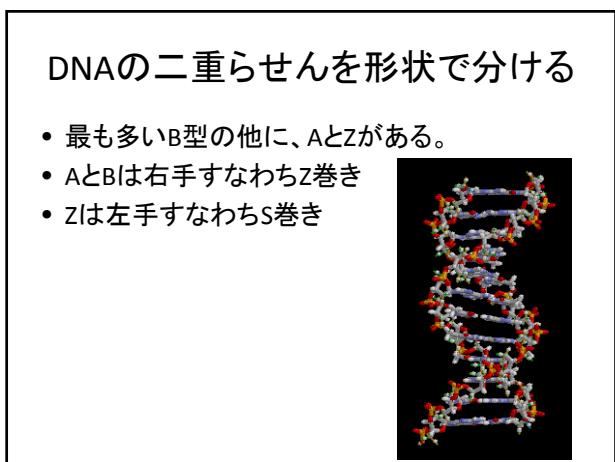
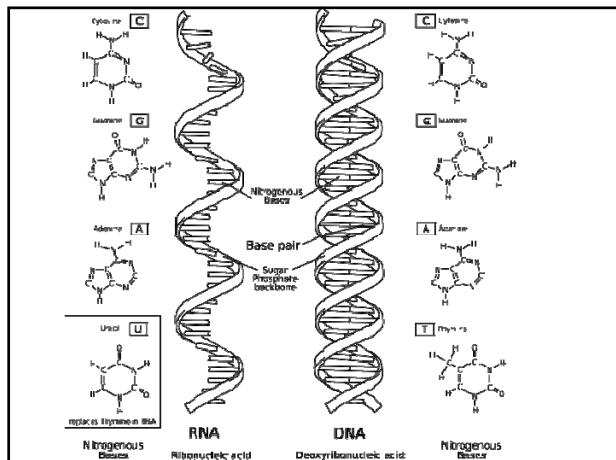
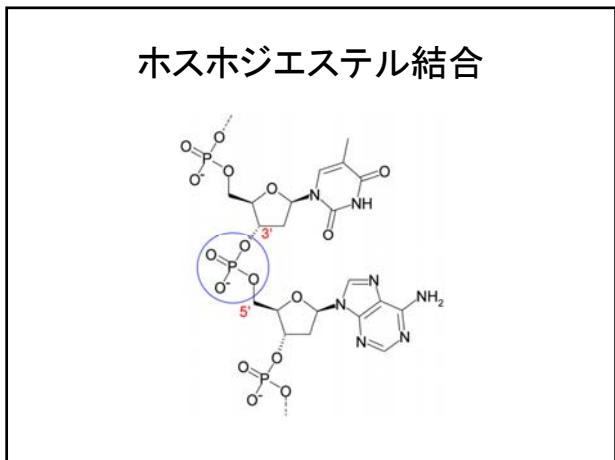
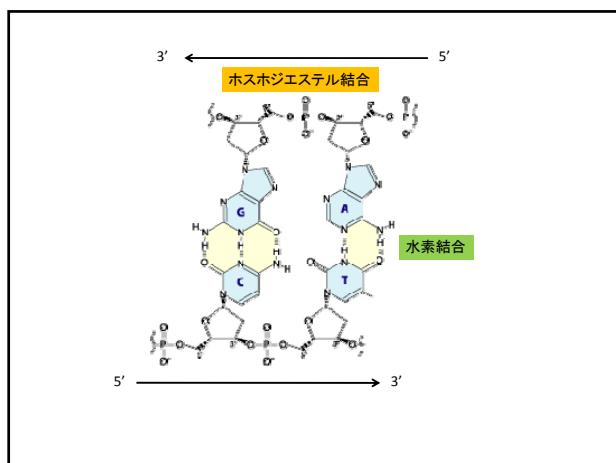
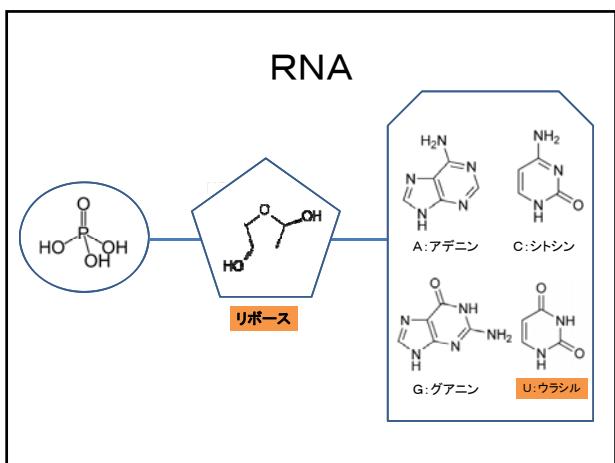


DNA



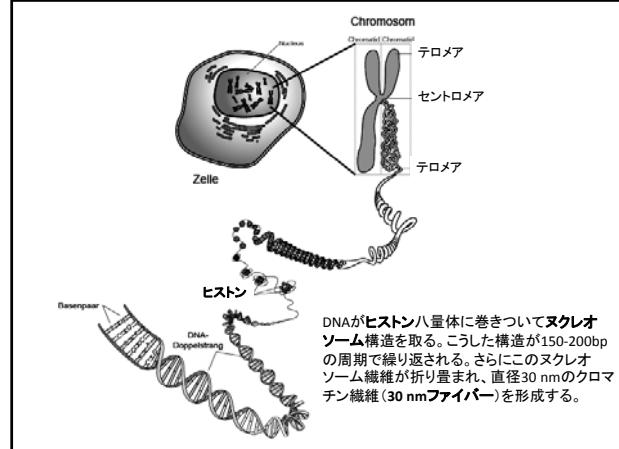
RNA





細胞内でのDNA

- 真核生物においては細胞核内に線状DNAとして存在し、ヒストンと結合して染色体を形成している。
- 動物細胞は直径が1000分の5ミリメートル程しかないが、その中のDNAをつなげてまっすぐに伸ばすと2メートルにも達する(ヒトの場合)ため、普段は非常に高度に折りたたまれている。

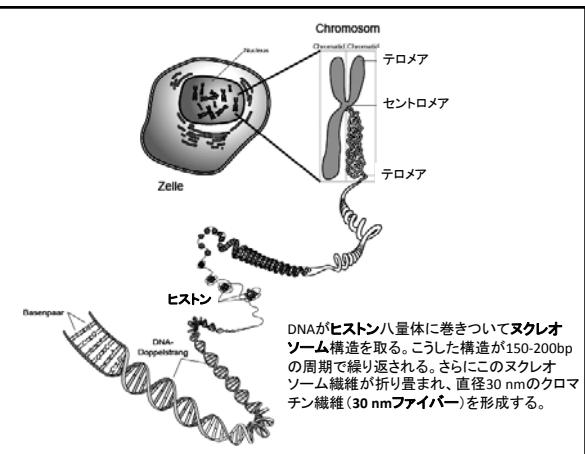


ヒストン

- 真核生物(と大部分の古細菌)のクロマチンを構成するタンパク質の一群。
- DNAを自身に巻き付けてコンパクトにする役目を持つ。
- 強い塩基性のタンパク質であり、酸性のDNAとの高い親和性を示す。

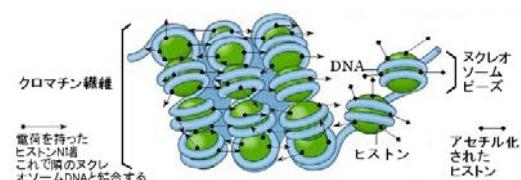
ヒストン

- ヒストンは主に、5種類のヒストン(H1, H2A, H2B, H3, H4)が知られている。
- このうち、H2A, H2B, H3, H4の4種は、コアヒストンと呼ばれ、それぞれ二分子でヒストン八量体を形成する。
- 一つのヒストンオクタマーは、約146 bpのDNAを左巻きに約1.65回巻き付ける。この構造はヌクレオソームと呼ばれ、クロマチン構造の最小単位である。
- H1はリンカーヒストンと呼ばれ、ヌクレオソーム間のDNAに結合する。二つのヌクレオソームの連結に関与している。



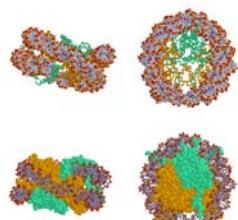
ヌクレオソーム

- ヌクレオソームが下のような繊維構造を取る。これがクロマチン。



クロマチン

- ヒストン八量体にDNA鎖が巻きついたヌクレオソームが基本構造。



クロマチン

- クロマチンには、大きく分類して
 - ユーホロマチン (euchromatin)
 - ヘテロクロマチン (heterochromatin)

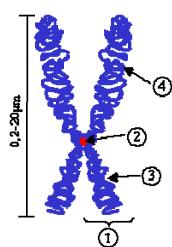
ユーホロマチン

- クロマチン構造がゆるまつており、転写されている遺伝子はこの部分に多く存在する。

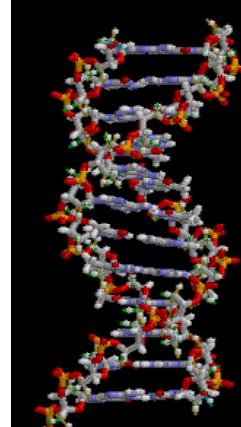
ヘテロクロマチン

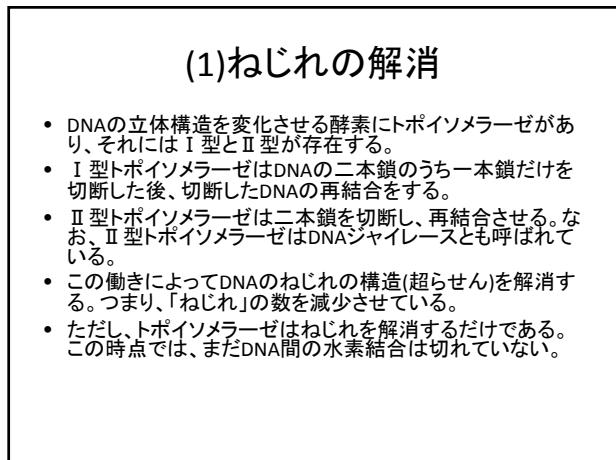
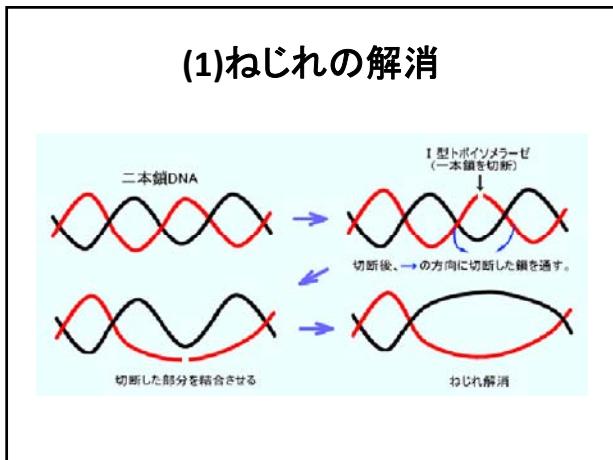
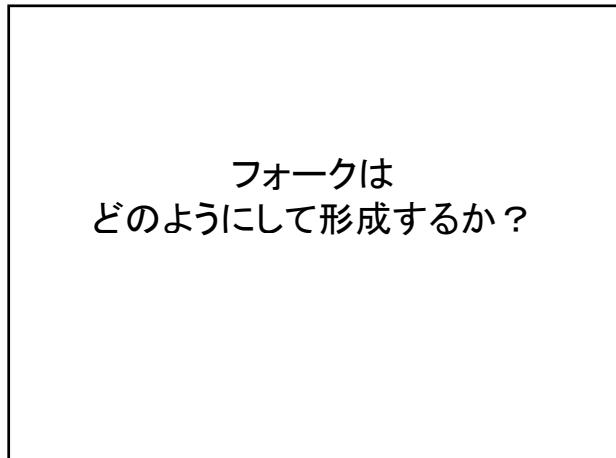
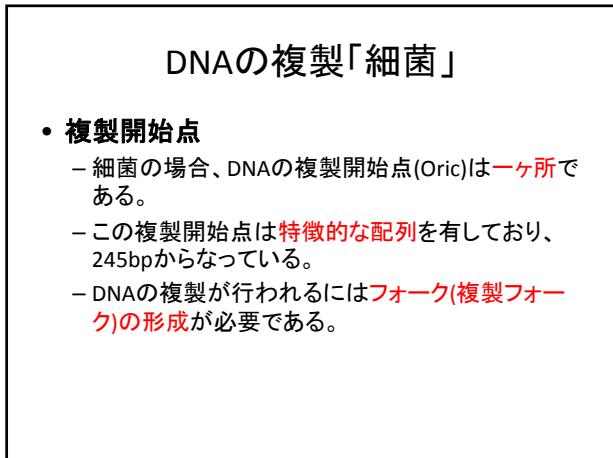
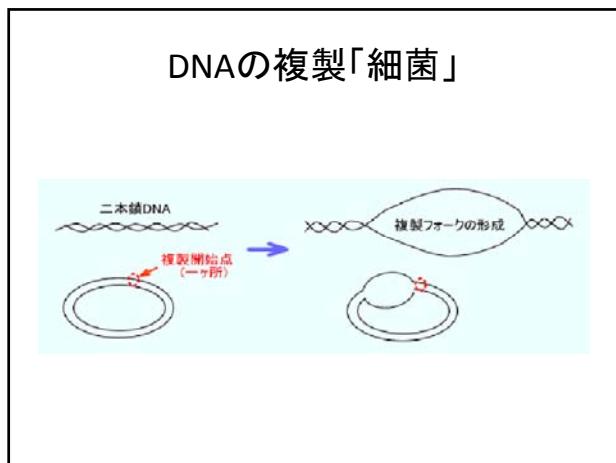
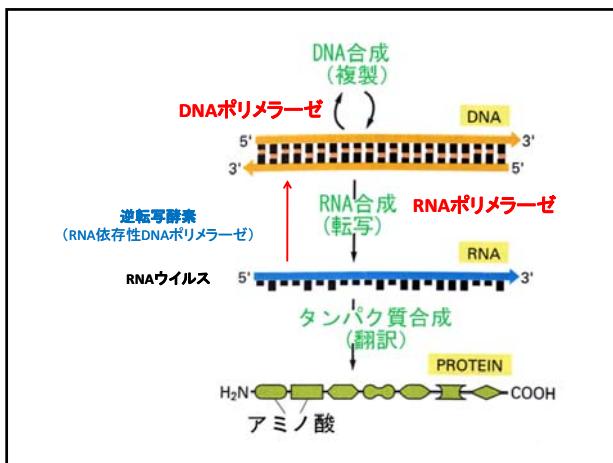
- ヘテロクロマチンは密に凝集しており、この領域ではあまり転写が起きていない。
- 細胞周期の間も常に凝縮されたクロマチンの形状、または種類のこと。
- セントロメアとテロメア周辺によく見つかり、主に短い配列の繰り返し。

染色体の各部位



- ① 染色体の末端部はテロメアと呼ばれる特有の構造をしている。
- ② セントロメア: 2つの染色分体が接合する場所で、ここに微小管が結合する
- ③ 短腕
- ④ 長腕



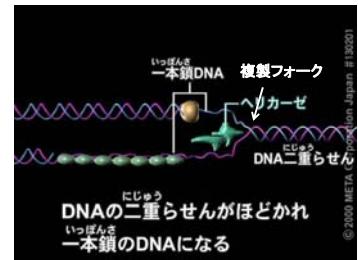


(2) フォークの形成

- ねじれを解消しDNAの複製を行いやくすると、次にDnaAタンパク質が複製開始点を認識する。
- 複製開始点を認識したDnaAタンパク質はDNAのらせんを巻き戻す。「巻き戻す」とは「塩基対をほどく」ということである。
- その後、ヘリカーゼ(DnaBタンパク質)が水素結合を切断し、DNAを巻き戻す。
- これらの酵素の働きによって、一本鎖DNAを一本鎖DNA二本にする。
二本鎖DNA → 一本鎖DNA × 2

DNA複製

- 複製はいくつかの因子が複製起点に誘導されるごとによって開始される。
- それらがDNAに結合してDNAを湾曲させ、さらにDNAヘリカーゼが結合し、二重らせんのねじれをとるよう回転させ、複製パブルと呼ばれる構造を作る。
- この複製パブルにできるDNAの枝分かれ部分を複製フォークと呼ぶ。



(3) 再結合の防止

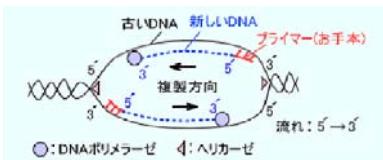
- DNAを一本鎖にしたのはいいが、早期に二本鎖へ戻ってしまうのでは都合が悪い。
- そこで、二本鎖DNAに戻らないようにSSBが結合する。SSBが結合することで一本鎖の状態が保たれる。

(4) DNA複製

- DNAの複製はDNAポリメラーゼ(DNA polymerase)が行う。
- 複製するときはDNAを3'→5'の方向に読み取り、新しく作られるDNAは5'→3'の方向で作成される。合成されるのはデオキシヌクレオチド(dATP、dGTP、dTTP、dCTP)である。
- DNAポリメラーゼだけでは複製は開始されない。

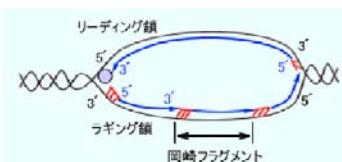
DNA合成

- 複製開始にはお手本が必要であり、このお手本部分をプライマー(RNA断片)という。つまり、複製開始には複製開始部分に前もってプライマーが作成されてないといけない。
- プライマーは短いRNA断片であり、DNAポリメラーゼの一種であるプライマーゼという酵素によって作られる。なお、このようにプライマーがDNAと結合することをアーリングという。

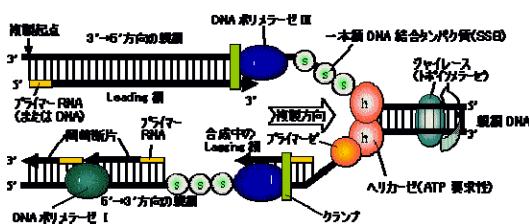


実際の複製では同一のDNAポリメラーゼが両方の鎖を同時に複製している。

- この矛盾は「片方の鎖は連続して5'→3'の方向で複製し、他方の鎖は断片的に5'→3'の方向で複製する」という方法によって解消される。
- このときに作製される断片を岡崎フラグメントという。また、フォークの進行方向と同じ方向の一本鎖で合成される鎖をリーディング鎖といい、フォークの進行と逆向きに合成される鎖をラギング鎖という。



大腸菌におけるDNA複製の全体の流れ



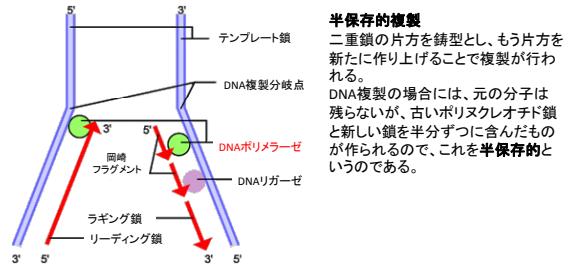
DNA複製のまとめ

1. ジャイレース(II型トポイソメラーゼ)がDNA二本鎖を切り、鎖を回転させた後、切れ目を閉じることによって複製フォーク前方の正の超らせんを解消する(らせんの巻き数を減らす)。
2. I型トポイソメラーゼが、一本鎖を切断し、再結合し、ねじれを解消する。
3. DnaAタンパク質が複製起点を認識し、会合体を作る。近傍のDNA鎖のらせんが巻き戻される。
4. ヘリカーゼ(DnaBタンパク質)がATPの加水分解のエネルギーで水素結合と疎水結合を切り、二本鎖DNAを巻き戻す。
5. 一本鎖DNA結合タンパク質(SSB)がDNAの一本鎖部分に結合し、再会合(アニーリング)を防ぐ。

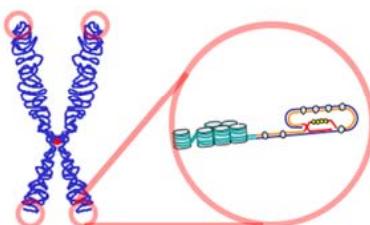
DNA複製のまとめ

6. リーディング(leading)鎖の合成
7. ラギング(lagging)鎖は岡崎フラグメント単位で不連続に合成される。プライマーゼによって、RNAプライマーがつくれられる。
8. DNAポリメラーゼIがその5'→3'エキソヌクレアーゼ活性を利用して、岡崎フラグメントの先頭のRNAプライマーを分解しながらDNA鎖の隙間を埋める(熟成)。
9. リガーゼが岡崎フラグメント同士をつなぐ。
10. II型トポイソメラーゼが2つの娘鎖を分離する。

DNA複製の模式図

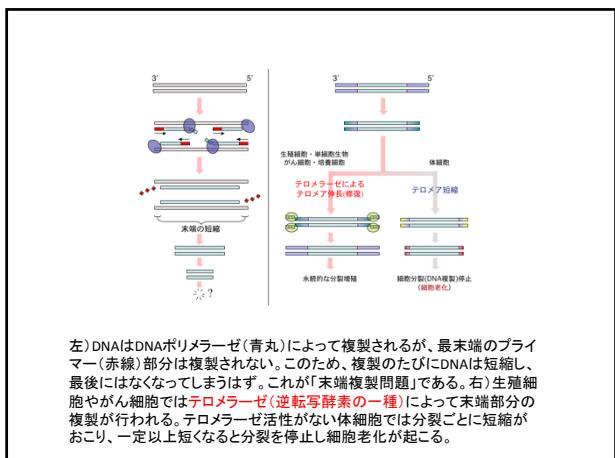


末端複製は？



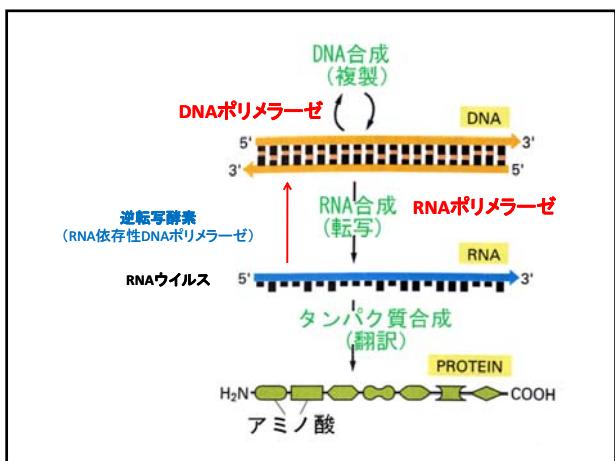
末端複製は？

- 染色体の末端にはテロメアという構造がある。テロメア部分は5'-TTAGGG-3'が高度に反復している。
- DNAの複製前にはお手本部分としてプライマー(RNA断片)が必要である。このプライマーパーティは複製後に除去されてしまう。
- つまり、一回複製するごとに染色体の末端はプライマーの長さの分だけ短くなるのである。このテロメア部分は通常の方法では複製できない。
- ただし生殖系、腸管細胞、がん細胞は何回でも分裂することが可能である。これはテロメア部分を合成するテロメラーゼという酵素が存在するからである。

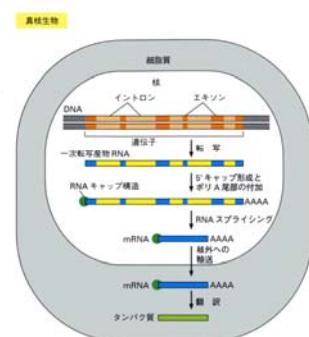


末端複製問題の回避

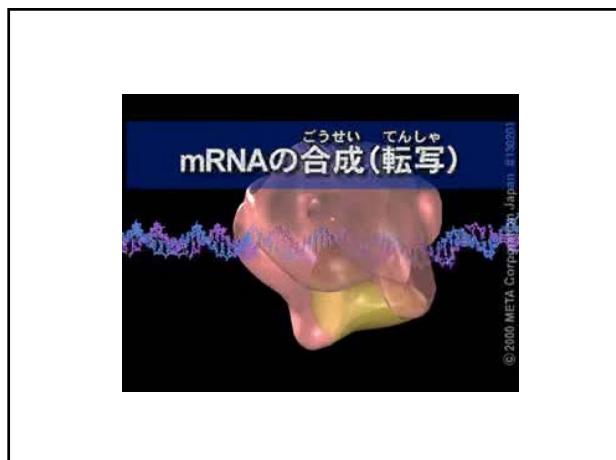
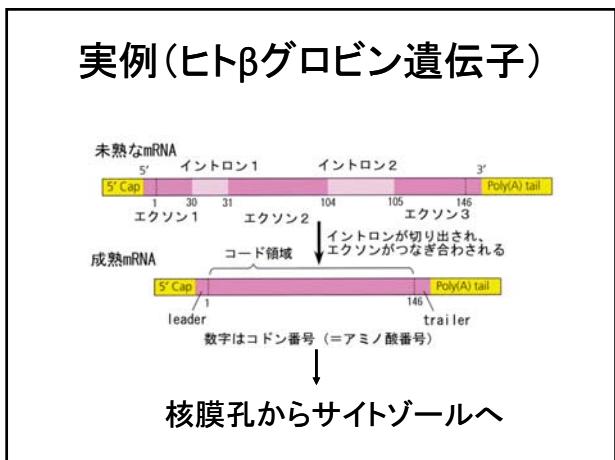
- 真正細菌のゲノムやプラスミドなど、末端のない環状DNAではこの問題は起こらない。
- 一部のウイルスも直鎖状ゲノムをもつが、ゲノムDNAを直線的に連結させたり、感染したのちに環状構造をとることで末端複製問題を回避している。

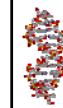


mRNAのプロセッシング



大事な用語はエクソンとインtron。エクソンは情報領域でインtronは非情報領域。インtronを取り取ってエクソンだけをつなぎ合わせることをスプライシングという。





DNAからタンパク質へ

		2番目の塩基					
		T	C	A	G	T	C
1番目の塩基	T	Phe	Ser	Tyr	Cys	T	C
	C	Phe	Ser	Stop	Stop	A	G
A	Leu	Leu	Pro	His	Arg	T	C
	Leu	Leu	Pro	His	Arg	C	A
G	Leu	Leu	Pro	Gln	Arg	G	G
	Leu	Leu	Pro	Gln	Arg	A	A
Ile	Ile	Thr	Asn	Ser	T	T	C
	Ile	Thr	Asn	Ser	C	C	A
Met	Ile	Thr	Lys	Arg	A	G	G
	Met	Thr	Lys	Arg	G	G	G
Val	Val	Ala	Asp	Gly	T	T	C
	Val	Ala	Asp	Gly	C	C	A
Val	Val	Ala	Glu	Gly	A	A	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G	G	G

変異と修復

静的変異(サイレント変異)

- 静的変異とはDNA配列には変化があるが、アミノ酸配列には無関係の場合の変異である。
- $C \rightarrow T$, $CTA \rightarrow TTA$
 $\text{Leu} \quad \text{Leu}$
- 例えば「CTA」はLeuをコードしていることを意味するが、C→Tに変化したとしてもLeuをコードする「TTA」に変化しただけなのでアミノ酸には全く影響を与えない。

ミスセンス変異

- ミスセンス変異とはDNA配列が変化することによって、アミノ酸が置き換わることである。
- 例えば「TTA」はLeuのコードを意味するが、A→Tに変化すると「TTT」となりPheをコードすることになる。変異した場所のアミノ酸がタンパク質にとって重要な部分ならさほど問題とならないが、変異した部分が重要な場所であればかなり問題である。

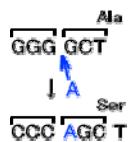
$A \rightarrow T$, $TTA \rightarrow TTT$
 $\text{Leu} \quad \text{Phe}$

ナンセンス変異

- ナンセンス変異とはアミノ酸のコードが終止コードに変化することである。
- 例えば「TTA」はLeuのコードであるが、T→Gに変異すると「TGA」となり終止コドンへと変化する。
- 終止コドンに変化するとタンパク質の合成は途中でストップしてしまう。この場合、途中で途切れたり短いタンパク質が合成されることになる。なお、このタンパク質のほとんどは活性がない。

フレームシフト変異

- 読み枠移動変異
- 塩基の挿入や欠損の結果として起こる変異である。この場合はアミノをコードする配列がすべて変化する。



損傷の修復 直接修復

- DNA上にチミンが二つ並んでいるとき、紫外線を受けるとチミン二量体を形成してしまう。このチミン二量体は光回復酵素によって修復される。光回復酵素は可視光によって活性化する。



- 光回復酵素(フォトリアーゼ), FADH₂, プテリンと300-500nmの光によりシクロプロパン環を開裂

損傷の修復 アルキル化の修復

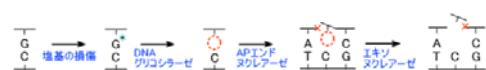
- O⁶-メチルグアニンやO⁴-メチルチミンなどのアルキル化の修復はO⁶-メチルグアニン-DNA-メチルトランスフェラーゼ(MGT)によって行われる。



- MGTはアルキル化した塩基にあるメチル基を自己で取り除く。これによって塩基のアルキル化を修復する。ただし、これによって酵素は失活するのでMGTは自殺酵素と呼ばれている。

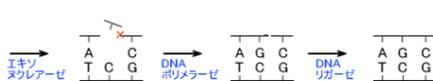
損傷の修復 塩基除去修復

- 塩基除去修復とは塩基が損傷した部分を酵素によって切り取って再びつなぎ合わせる方法である。1塩基を切り取る場合はDNAグリコシラーゼによって行われる。DNAグリコシラーゼは損傷塩基を外し、APサイトを作る働きをする。



- APサイトが作られると、APエンドヌクレアーゼによってAPサイトが存在する部分が1ヶ所切断される。その後、エキソヌクレアーゼによってAPサイトは完全に除去される。

- APサイトが除去されるとDNAポリメラーゼによって新しく塩基が作られる。そして、最後にDNAリガーゼがパニックを埋めて修復が完了する。



- DNA中のグアニンが酸化され8-オキシグアニンができた場合、ヒトでこの8-オキシグアニンを取り除くDNAグリコシラーゼをOGG1という。
- また、DNA中の塩基ではアデニンも酸化される。アデニンが酸化されると2-ヒドロキシアデニンとなる。ヒトで2-ヒドロキシアデニンを取り除く働きをする酵素はMUTYH1である。

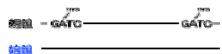
損傷除去修復 ヌクレオチド除去修復

- チミン二量体を修復するとき、光回復を利用しない修復の仕方が存在する。この方法は酵素によって行われる。
- 塩基を切り取るとき、チミン二量体を挟んで12~13ヌクレオチドで切り取る。大腸菌ではUVエンドヌクレアーゼによって切り取られる。その後、DNAポリメラーゼとDNAリガーゼの働きによって修復が完了する。

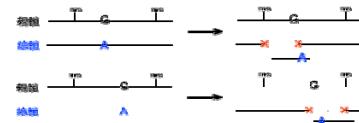


複製後修復 ミスマッチ修復

- DNAポリメラーゼは塩基を挿入するときに間違いを起こすことがある。間違いはすぐに訂正されるが、間違いが見逃されることがある。このように訂正されなかつた塩基にはミスマッチ修復(不適合修復)という機構が働いて修復される。
- 塩基のエラーが確認されたとき、どちらが親鎖かを見分ける必要がある。見分けるときにはアデニンのメチル化で親鎖を決定する。親鎖のところ、どこには-GATC-配列があり、この配列中のアデニンはメチル化されているのである。

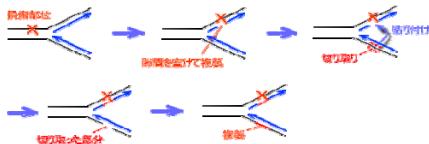


- エラーを修正するためにスクレオチドを切断するとき、まずどちらが親鎖かを認識する。その後、エラー箇所から近い方のメチル化部位の反対側を切る。スクレオチドが取り除かれる部分はエラー部分からメチル化部分までである。

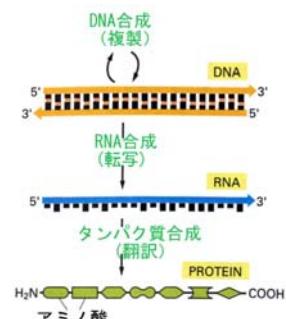


複製後修復 相同DNA組み換え修復

- 損傷のない他方の鎖の組換えで損傷部分を補充した後、損傷のないDNAに生じた隙間を埋めて閉じる。



セントラルドグマ



ゲノム(genome)とは

- ゲノム(genome)という言葉は、遺伝子(gene)と染色体(chromosome)の合成語である。
- 生物の構成単位である細胞のなかには、染色体と呼ばれる遺伝子をのせた集合体が存在する(ご存知の通り、ヒトでは23対の染色体が存在する)。

ゲノム(genome)とは

- 一つ一つの染色体には、DNA鎖が、コイル状にぐるぐる巻きになって(これをクロマチン構造と呼びます)収まっている。
- このDNA二重らせんのなかに、生物が持つすべての機能や活動をコントロールするための指示が(暗号のように)並んだ部分が含まれており、これを遺伝子と呼ぶ。

図1 ゲノムとは

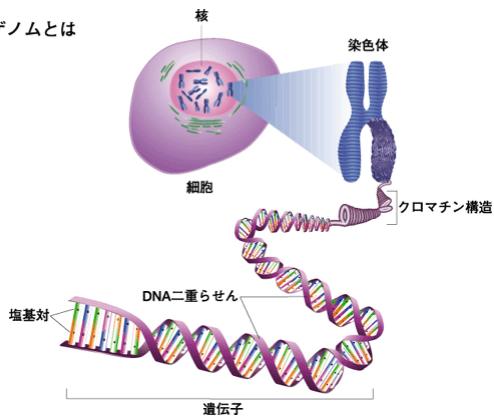
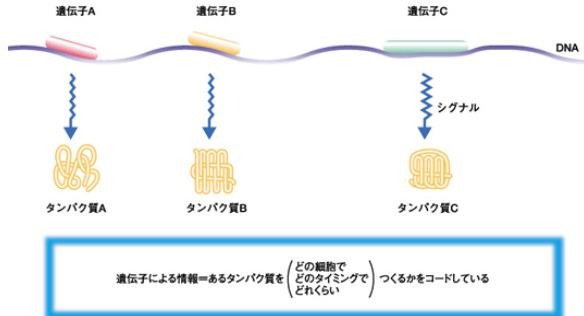


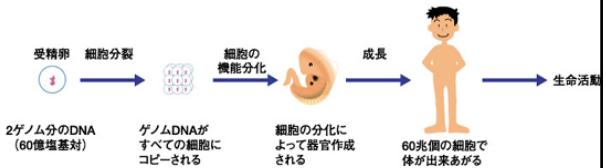
図3 遺伝子上の暗号とその役割



遺伝子部分

- DNA二重らせんの内の10%弱が遺伝子部分に相当すると言われている。最近、ヒトの場合、この遺伝子が約2万2千個存在するとと言われている。
- ゲノムとは、上に述べた染色体から遺伝子にいたる一つのシステムをセットにして呼んでいる。
- ヒトで、この塩基対の数は約30億個であることがわかっている。

図4 遺伝子と生命活動について



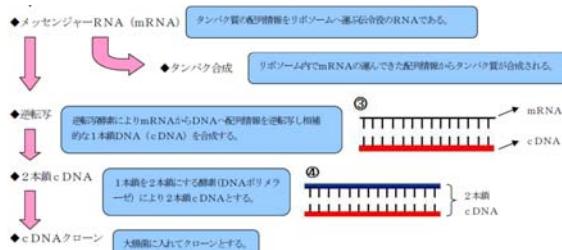
真核細胞

ポスト・ゲノム時代の研究の方向

1. cDNA(相補型DNA)解析
2. バイオインフォマティクス
3. プロテオーム解析

1) cDNA (相補型DNA) 解析:

- cDNAはmRNAのコピーであり、遺伝子だけを効率よく研究するためには必須の技術である。



2)バイオインフォマティクス:

- 生命情報科学などと訳されているが、生命化学と情報科学の境界に生まれた新しい研究分野である。
- 現在、生命関連のデータベースはDNA配列、アミノ酸配列、タンパク質立体構造などですが、これらのデータを効率良くコンピュータ処理して、新薬に結びつく情報を引き出す研究、技術をいう。
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

3)プロテオーム解析:

- プロテオーム(proteome)とはprotein(タンパク質)とgenome(ゲノム)を組み合わせた造語であり、ゲノムが一個の生物の持つ全ての遺伝情報を指すのに対し、プロテオームは、細胞内で発現している(発現する可能性をもつ)全タンパク質のことを指す。

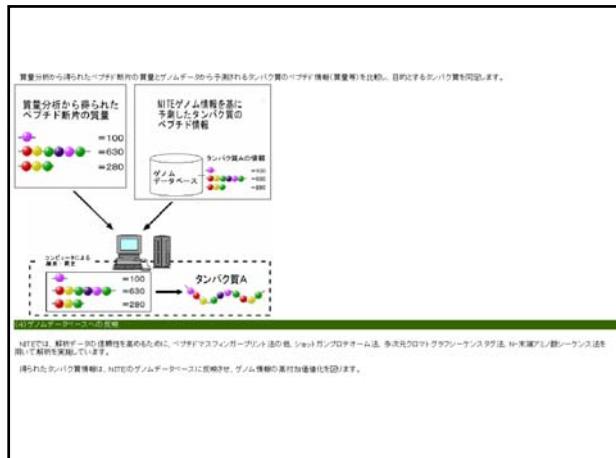
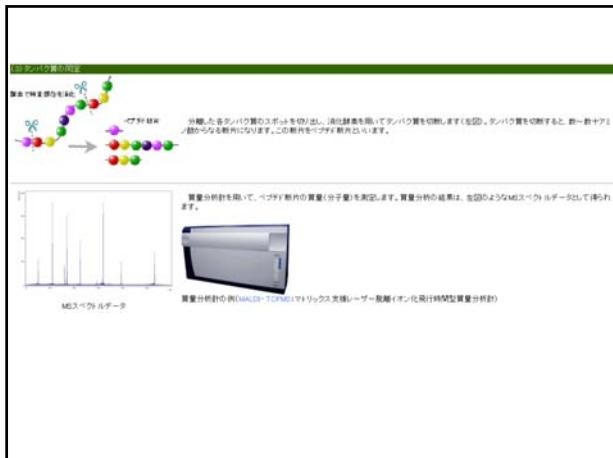
3)プロテオーム解析:

- 病態と正常の細胞中のプロテオームを比較することで、疾患に関係しているタンパク質を見出すことが出来る。

プロテオーム解析の流れ

- (1)タンパク質の発現
- (2)タンパク質の分離
- (3)タンパク質の同定
- (4)ゲノムデータベースへの反映、という手順を経て行われます。

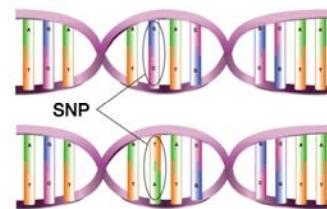




さらに応用面で注目されるものとして

- **SNP(スニップ)**: 遺伝的に継承される塩基の置き換わり(1塩基多型)のことを言い、個人の体质に関係しています。
- **DNAチップ(ジーンチップまたはDNAマイクロアレイともいいます)**: シリコンチップまたはガラス版上に塩基配列がすでに分かっている一本鎖DNAを整列化/固定したものです。SNP解析、遺伝子鑑定、固体識別、疾患関連遺伝子研究などに用いられています。

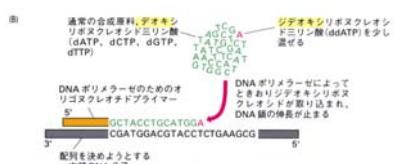
Single Nucleotide Polymorphism (SNP)



2人以上のヒトのゲノムを比較すると
• 3 0 0 0 M B のうち、99.9%は塩基配列が同じ
• 残り0.1% (約3 0 0 万ベース)は個人間で差

DNA塩基配列の決定

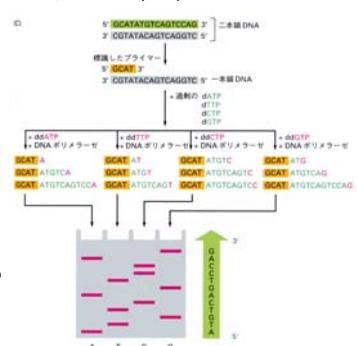
ジデオキシヌクレオシド三リン酸を原料に少し混ぜて、DNAの合成反応を進める。



ジデオキシヌクレオシド三リン酸が取り込まれたところで合成が止まった、いろいろな長さのDNA断片が生じる。

DNA塩基配列の決定

4種の塩基でこれをやり、ゲル電気泳動する。
4つのクロマトグラムを並べ、下から読んでくと、それが延期の配列になる



マイクロアレイを用いた発現 プロファイリング

