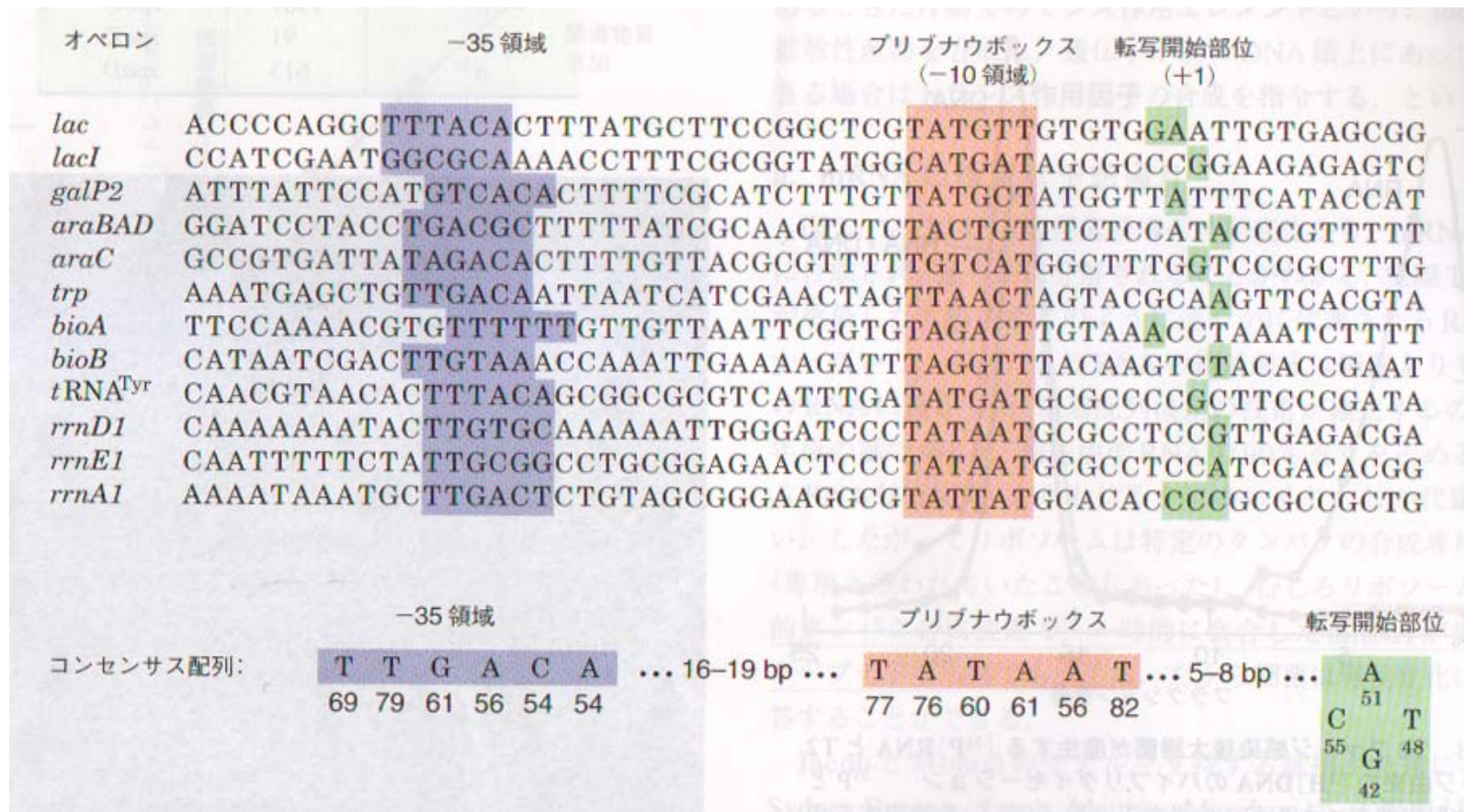


転写

1. タンパク合成におけるRNAの役割
酵素誘導
2. RNAポリメラーゼ
鎖型への結合
転写開始
鎖延長
転写終結
真核生物のRNAポリメラーゼ
3. 原核生物における転写制御
プロモーター
カタボライト(異化代謝産物)抑制
オペロン
4. 転写後修飾
プロセッシング

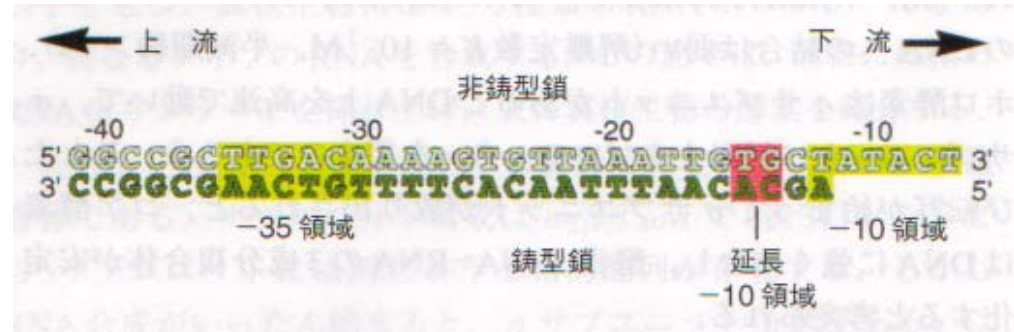
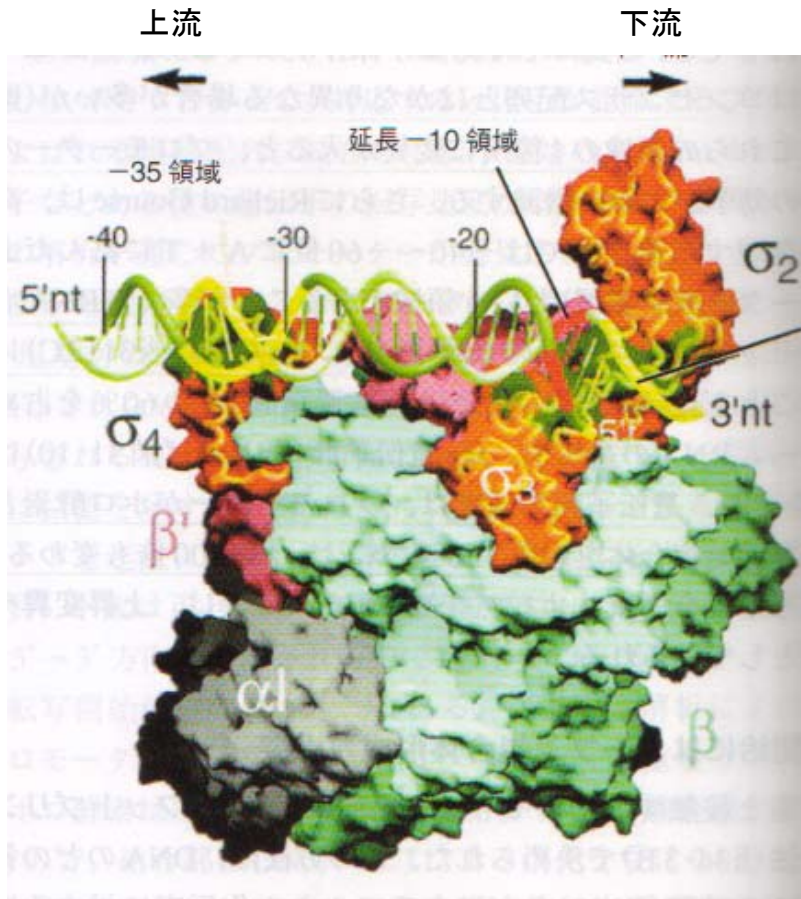
RNAポリメラーゼ（鎖型への結合）

プロモーターに特異的に結合



大腸菌の代表的なプロモーターのセンス鎖の配列

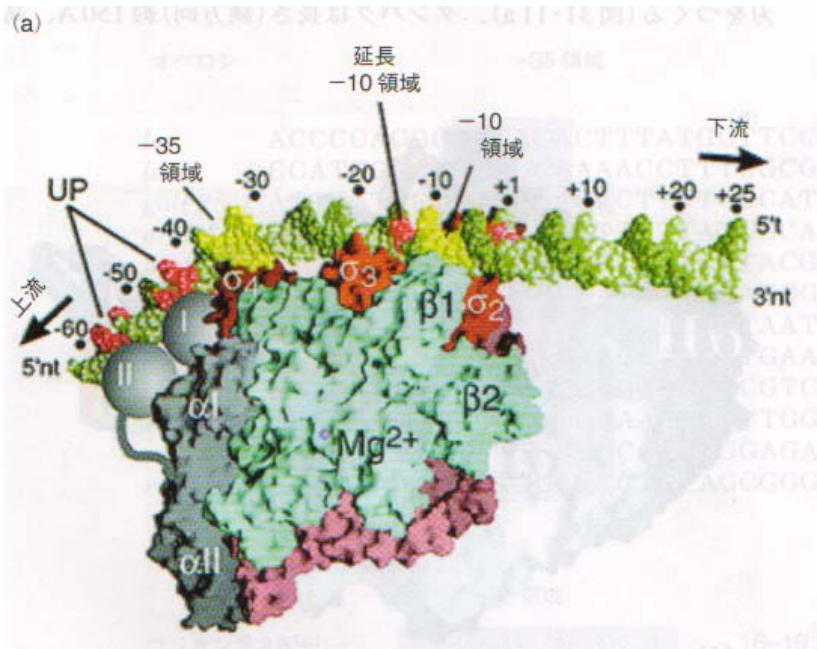
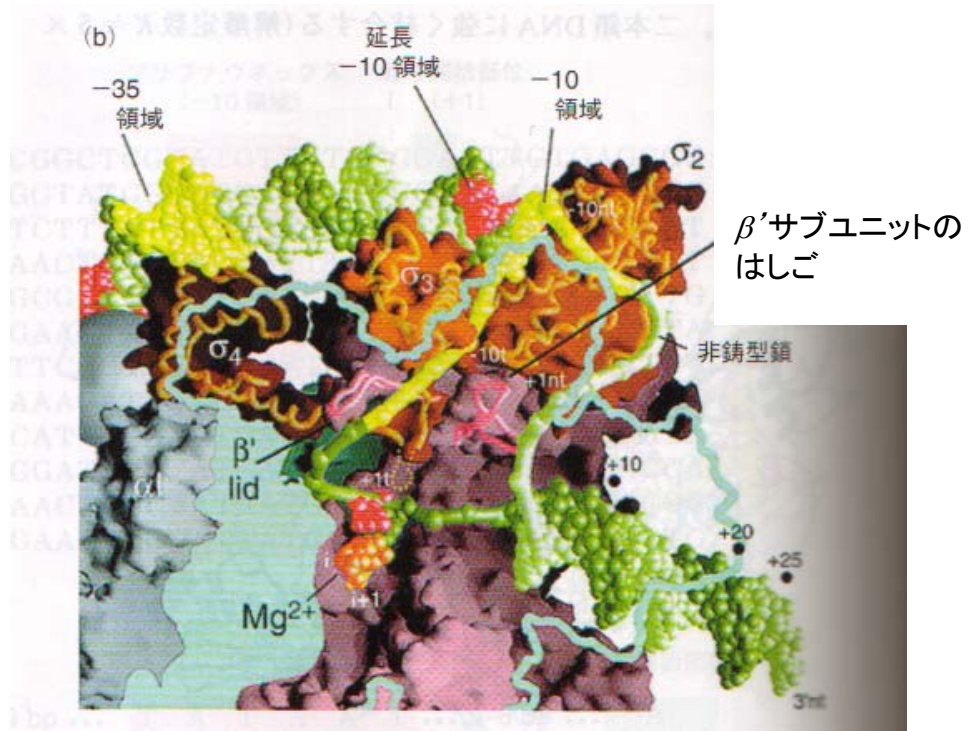
RNAポリメラーゼ（転写開始）



-10領域

*Taq*ホロ酵素に刺さった形のフォーク連結
プロモーターDNA配列の複合体

RNAポリメラーゼ（転写開始）

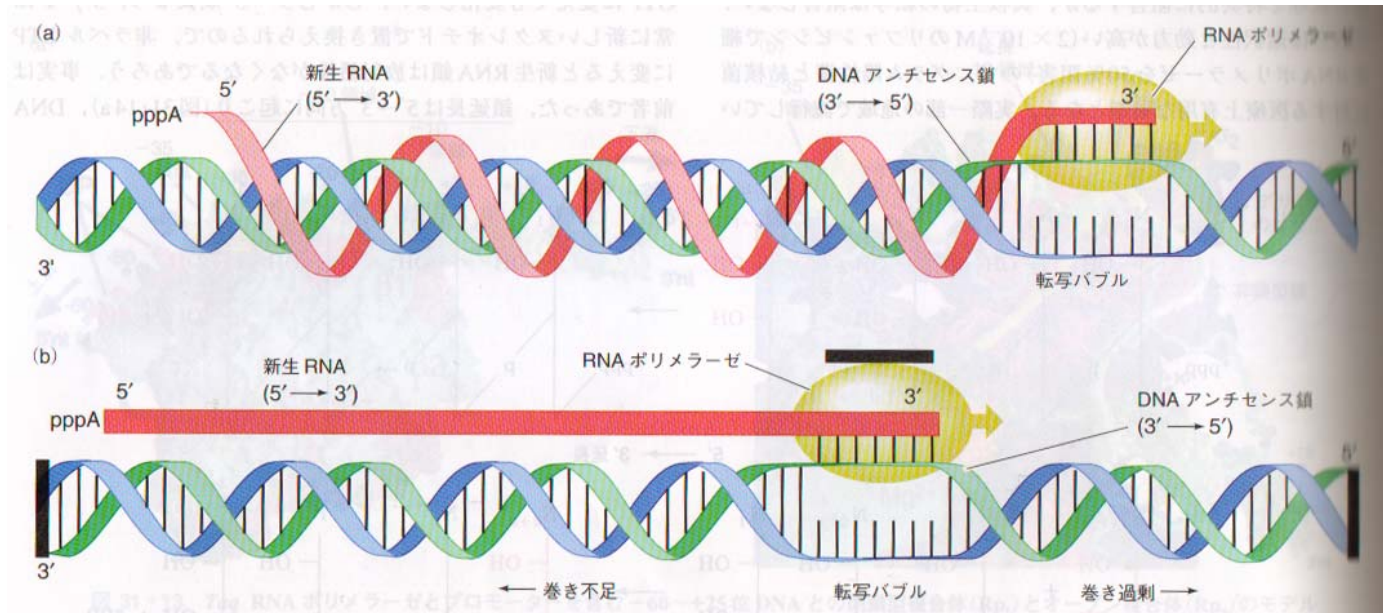
閉鎖型複合体(Rp_c)

オープン複合体 (Rp_o)

TaqRNAポリメラーゼとプロモーターを含むDNAのモデル

ヴォート「生化学(下)」より

RNAポリメラーゼ（鎖延長）



RNAポリメラーゼによるRNA鎖延長

(a) 第一の可能性

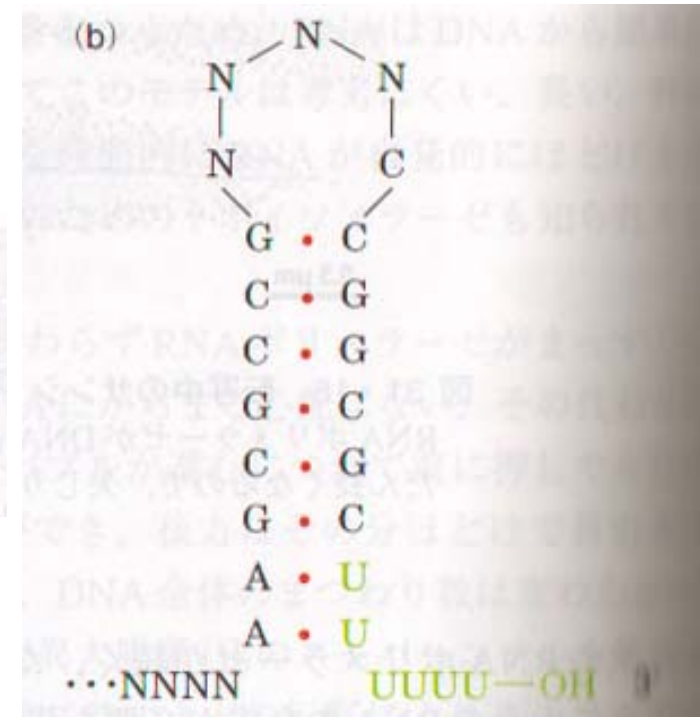
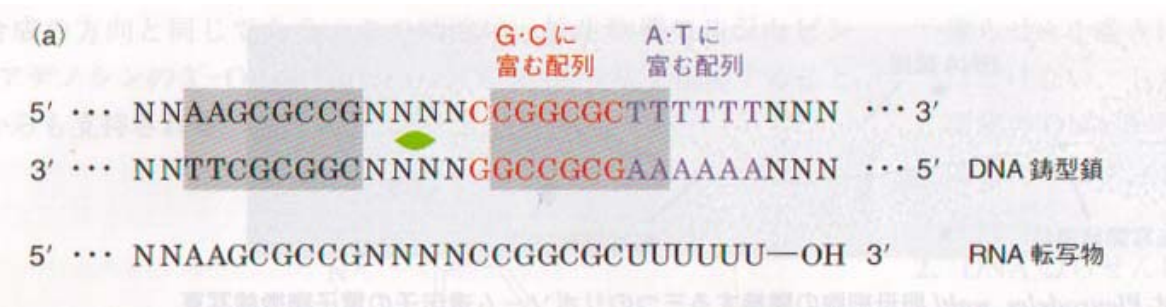
RNAポリメラーゼがDNAの二重らせんのまわりを鋳型鎖に沿って動く

(b) 第二の可能性

RNAポリメラーゼはまっすぐに進みDNAがその下で回転する

RNAポリメラーゼ（転写終結）

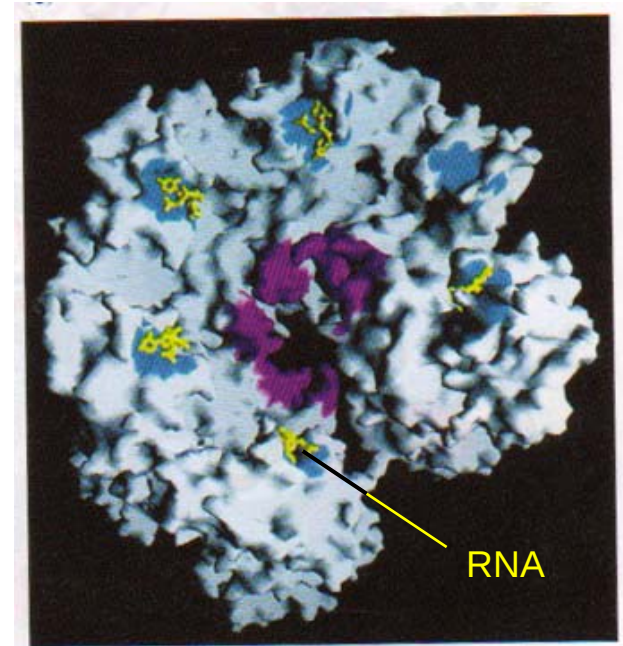
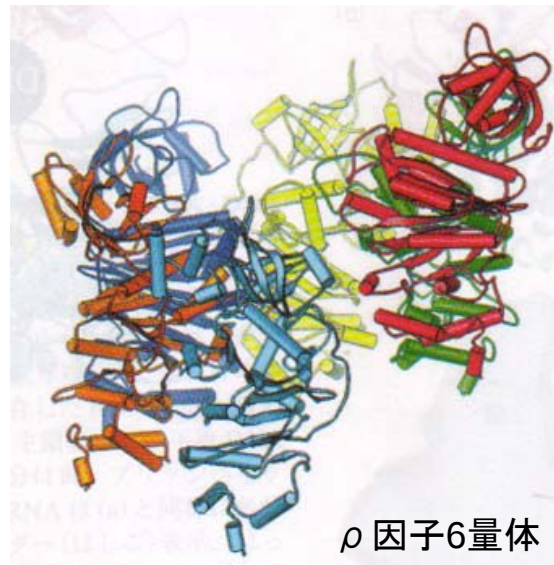
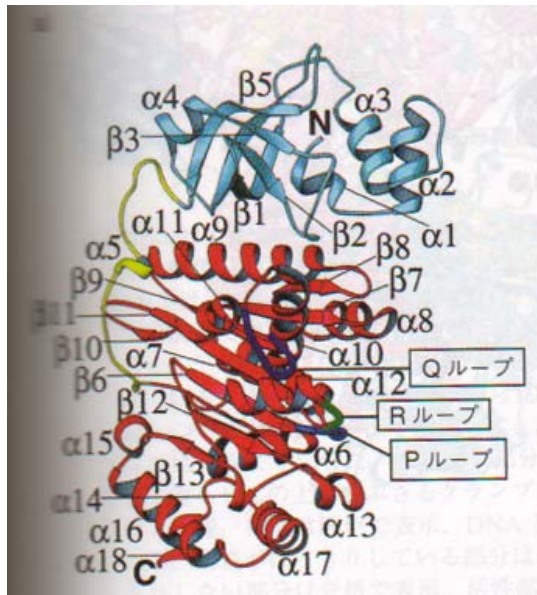
転写終結を引き起こすRNAヘアピン構造
とポリ(U)尾部



大腸菌の効率のよい仮想的転写終結配列

RNAポリメラーゼ（転写終結）

RNAの第1の結合部位
(N端ドメイン)



RNAの第2の結合部位
(C端ドメイン)

ρ 因子とRNAの複合体のX線構造

真核生物のRNAポリメラーゼ

表 31・2 RNA ポリメラーゼのサブユニット^{†1}

酵母 (<i>S. cerevisiae</i>)			大腸菌 (<i>E. coli</i>)	クラス ^{†2}
RNAP I (14 サブユニット)	RNAP II (12 サブユニット)	RNAP III (15 サブユニット)	RNAP コア (5 サブユニット)	
Rpa1 (A190)	Rpb1 (B220)	Rpc1 (C160)	β'	コア
Rpa2 (A135)	Rpb2 (B150)	Rpc2 (C128)	β	コア
Rpc5 (AC40)	Rpb3 (B44.5)	Rpc5 (AC40)	α	コア
Rpc9 (AC19)	Rpb11 (B13.6)	Rpc9 (AC19)	α	コア
Rpb6 (ABC23)	Rpb6 (ABC23)	Rpb6 (ABC23)	ω	コア/共通
Rpb5 (ABC27)	Rpb5 (ABC27)	Rpb5 (ABC27)		共通
Rpb8 (ABC14.4)	Rpb8 (ABC14.4)	Rpb8 (ABC14.4)		共通
Rpb10 (ABC10 β)	Rpb10 (ABC10 β)	Rpb10 (ABC10 β)		共通
Rpb12 (ABC10 α)	Rpb12 (ABC10 α)	Rpb12 (ABC10 α)		共通
Rpa9 (A12.2)	Rpb9 (B12.6)	Rpc12 (C11)		
Rpa8 (A14) ^{†3}	Rpb4 (B32)	—		
Rpa4 (A43) ^{†3}	Rpb7 (B16)	Rpc11 (C25)		
+2 サブユニット ^{†4}		4 サブユニット ^{†4}		

†1 相同サブユニットは同じ行。かっこ内の別名は、文字はサブユニットが含まれる RNAP (A, B, C はそれぞれ RNAP I, II, III に対応), 数字は kD で表したおよその分子質量を表す。

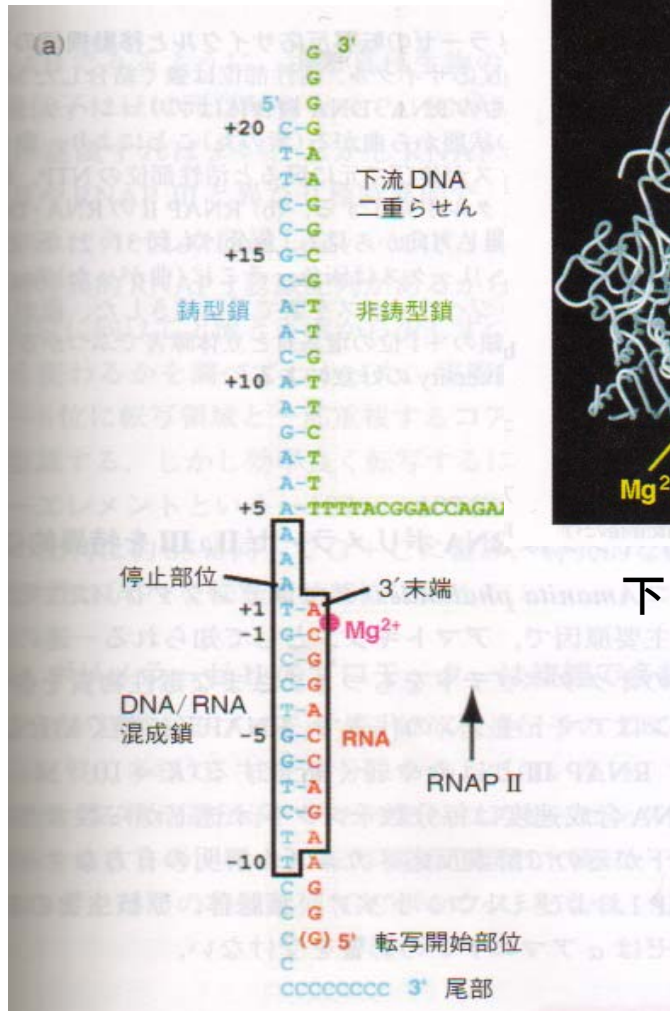
†2 “コア” はすべての RNA ポリメラーゼに部分的に相同な配列, “共通” はすべての真核 RNA ポリメラーゼに共通する配列。

†3 おそらく Rpb4, Rpb7 の相同タンパク。

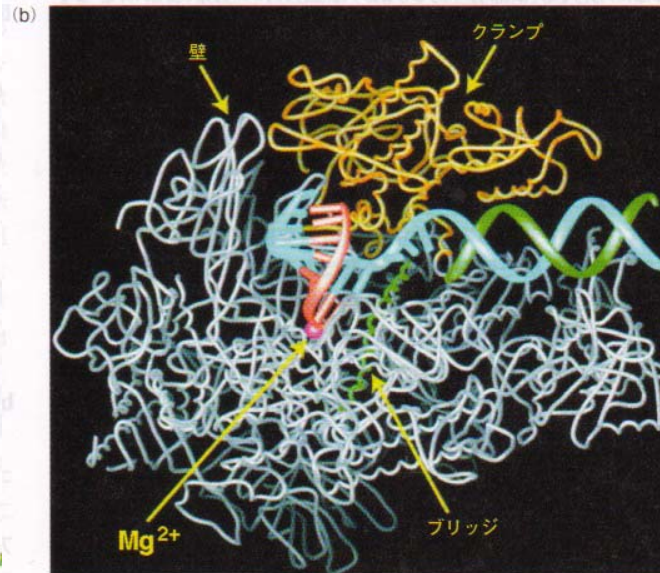
†4 RNAP I の Rpa3 (A49) と Rpa5 (A34.5) および RNAP III の Rpc3 (C74), Rpc4 (C53), Rpc6 (C34), Rpc8 (C31)

出典: おもに P. Cramer, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 12, 89 (2002)。

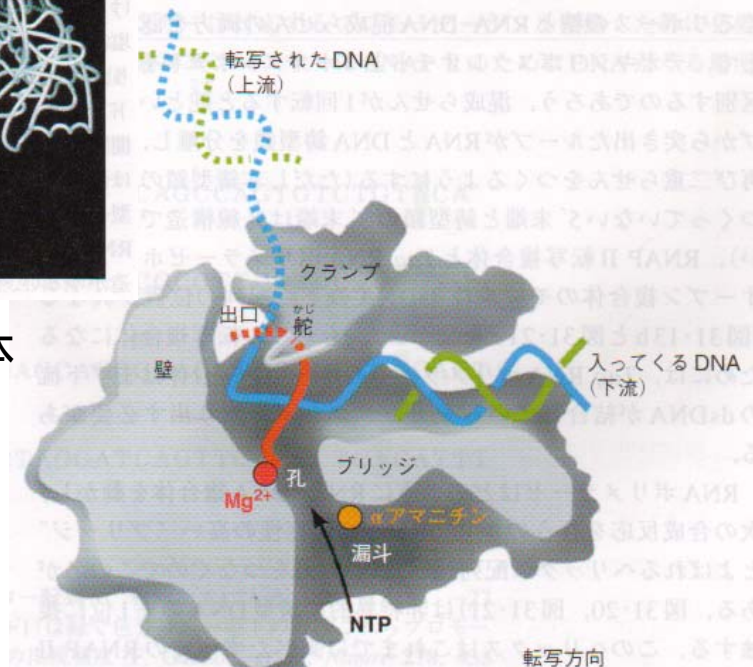
真核生物のRNAポリメラーゼ RNAP IIの構造



RNA・DNA混成鎖中



下から見た転写複合体

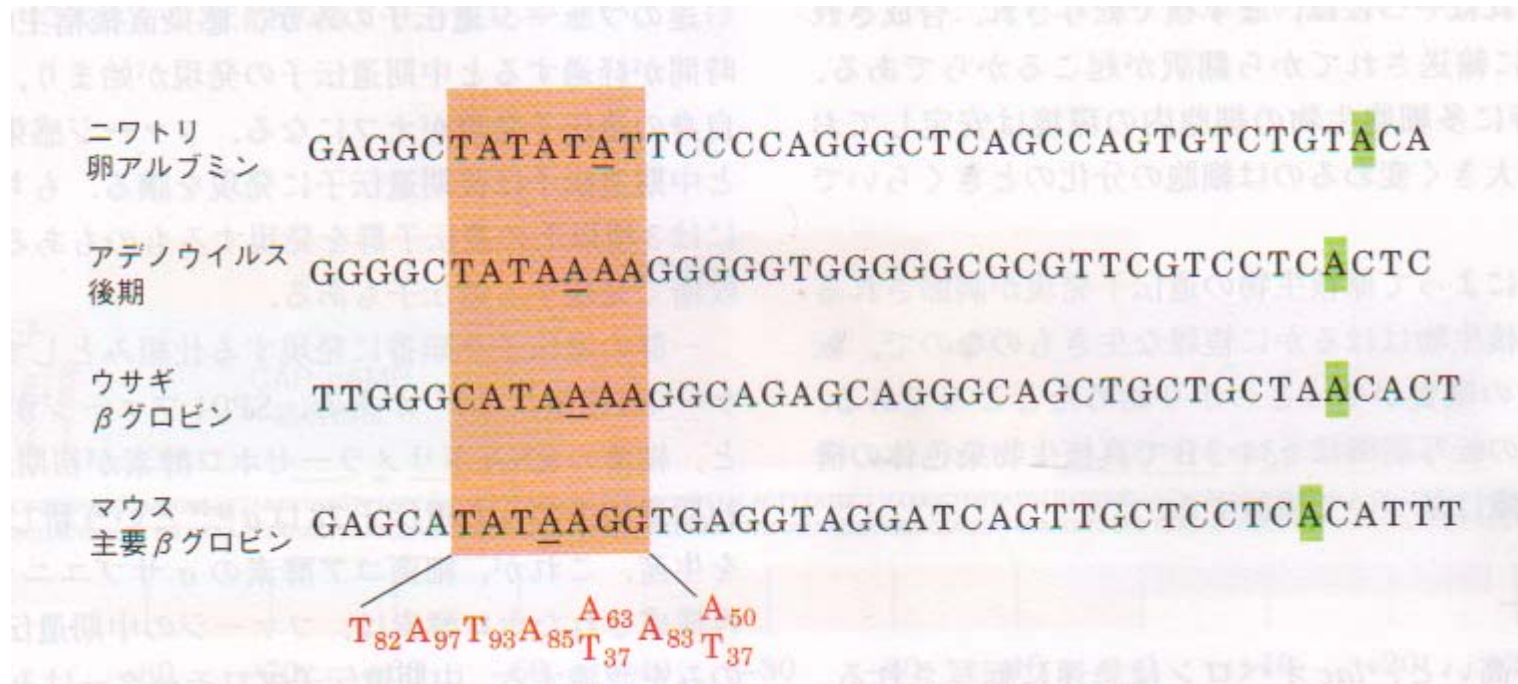


転写複合体の断面図

ヴォート「生化学(下)」より

真核生物のRNAポリメラーゼ

TATAボックス



代表的な真核構造遺伝子のプロモーター配列

転写

1. タンパク合成におけるRNAの役割
酵素誘導
2. RNAポリメラーゼ
鎖型への結合
転写開始
鎖延長
転写終結
真核生物のRNAポリメラーゼ
3. 原核生物における転写制御
プロモーター
カタボライト(異化代謝産物)抑制
オペロン
4. 転写後修飾
プロセシング

カタボライト(異化代謝産物)抑制

大腸菌の増殖時に適切な量のグルコース存在していると、他の多くの代謝物質(ラクトース、アラビノース、ガラクトースなど)が存在していても、それらの代謝に関与するタンパクの遺伝子発現が抑制される。

グルコースと大腸菌内のcAMP濃度の関係



グルコース存在下ではcAMPレベルが低下

cAMP結合タンパク質

カタボライト遺伝子活性化タンパク(CAP)

cAMP受容体タンパク(CRP)

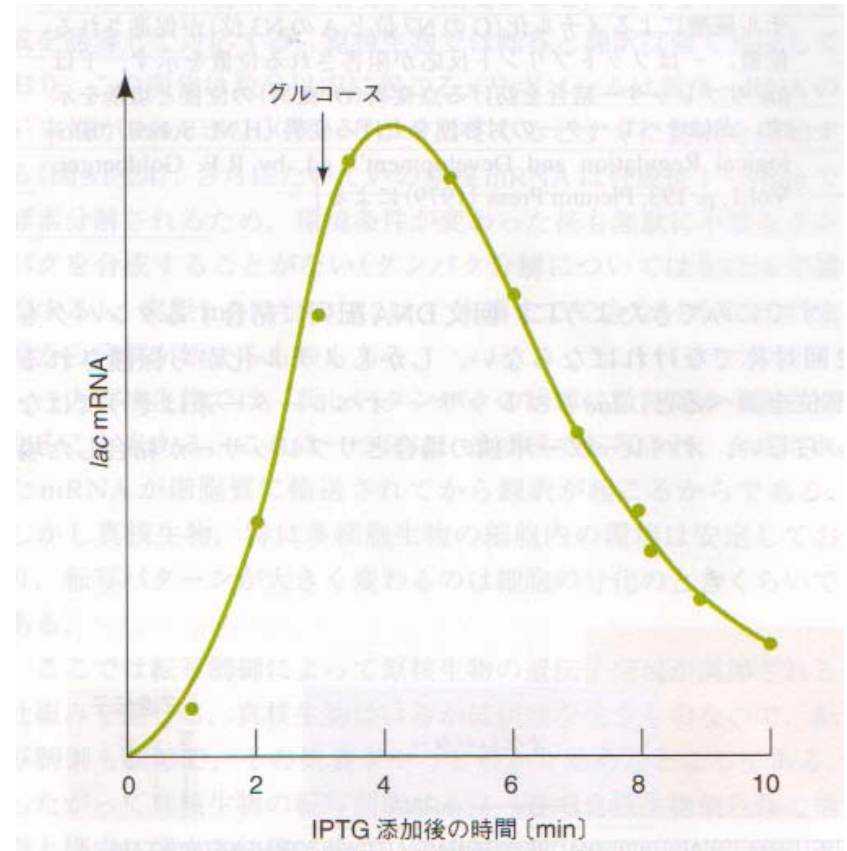
*lac*リプレッサーがない

→CAP-cAMP複合体が*lac*オペロンに結合

→低効率プロモーターからの転写を促進

CAPは正の調節因子(転写オン)

*lac*リプレッサーは負の調節因子(転写オフ)



IPTGによる誘導による*lac*オペロンのmRNAの合成とグルコース添加後のmRNA分解の時間変化

カタボライト(異化代謝産物)抑制

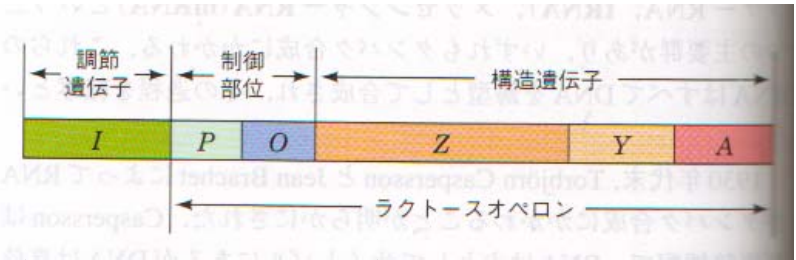
大腸菌の増殖時に適切な量のグルコース存在していると、他の多くの代謝物質(ラクトース、アラビノース、ガラクトースなど)が存在していても、それらの代謝に関与するタンパクの遺伝子発現が抑制される。

グルコースと大腸菌内のcAMP濃度の関係
↓
グルコース存在下ではcAMPレベルが低下

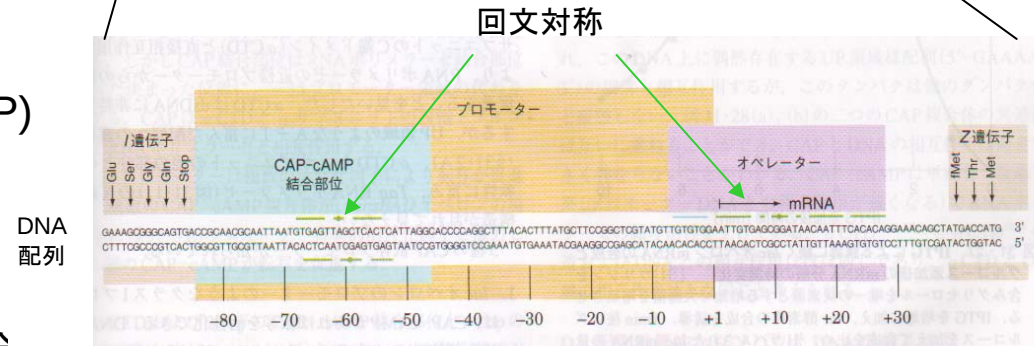
cAMP結合タンパク質
カタボライト遺伝子活性化タンパク(CAP)
cAMP受容体タンパク(CRP)

*lac*リプレッサーがない
→CAP-cAMP複合体が*lac*オペロンに結合
→低効率プロモーターからの転写を促進

CAPは正の調節因子(転写オン)
*lac*リプレッサーは負の調節因子(転写オフ)

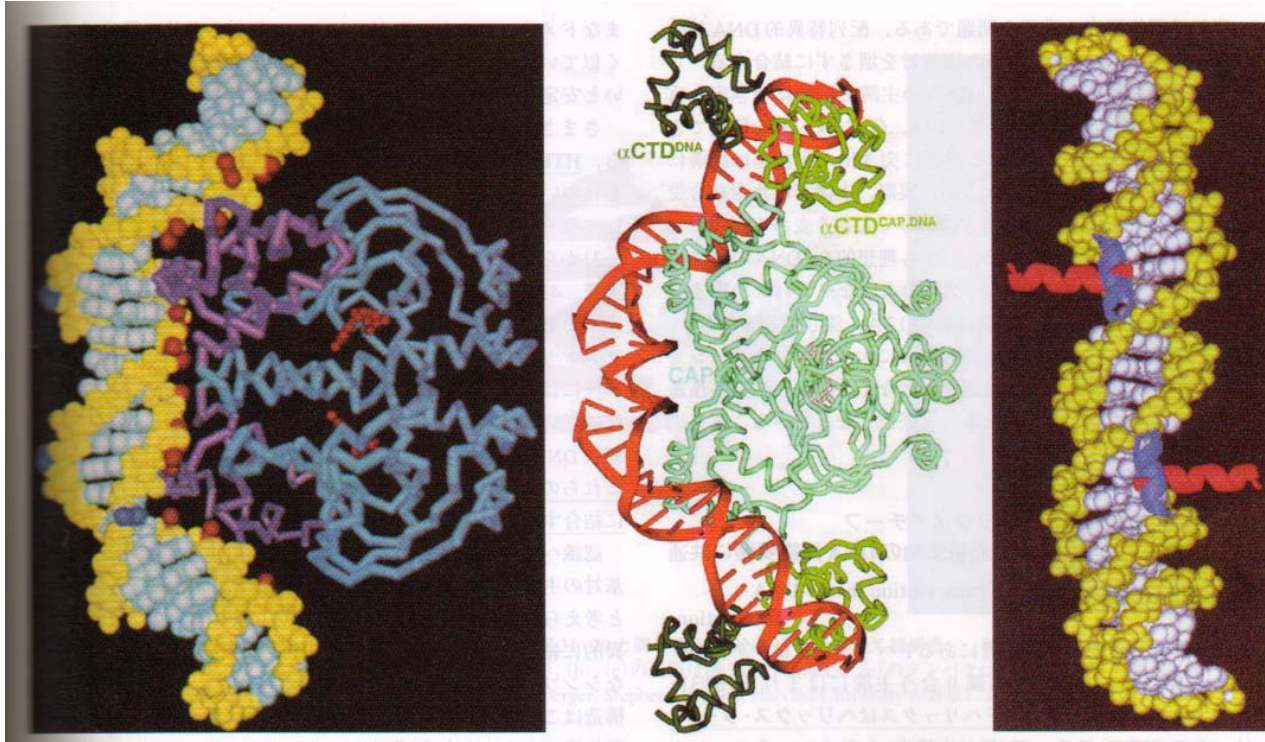


回文対称性はタンパクが結合するDNAによくみられる特徴



大腸菌*lac*プロモーター – オペレーター領域の塩基配列

CAP-cAMP複合体のX線構造



CAP-cAMPと30bpの回文配列をもつdsDNAの複合体

CAP-cAMPと44bpの回文配列とDNAおよび α CTDの複合体

二量体の二つのヘリックス・ターン・ヘリックス(HTH)モチーフがDNAの隣接する主溝に結合する様子

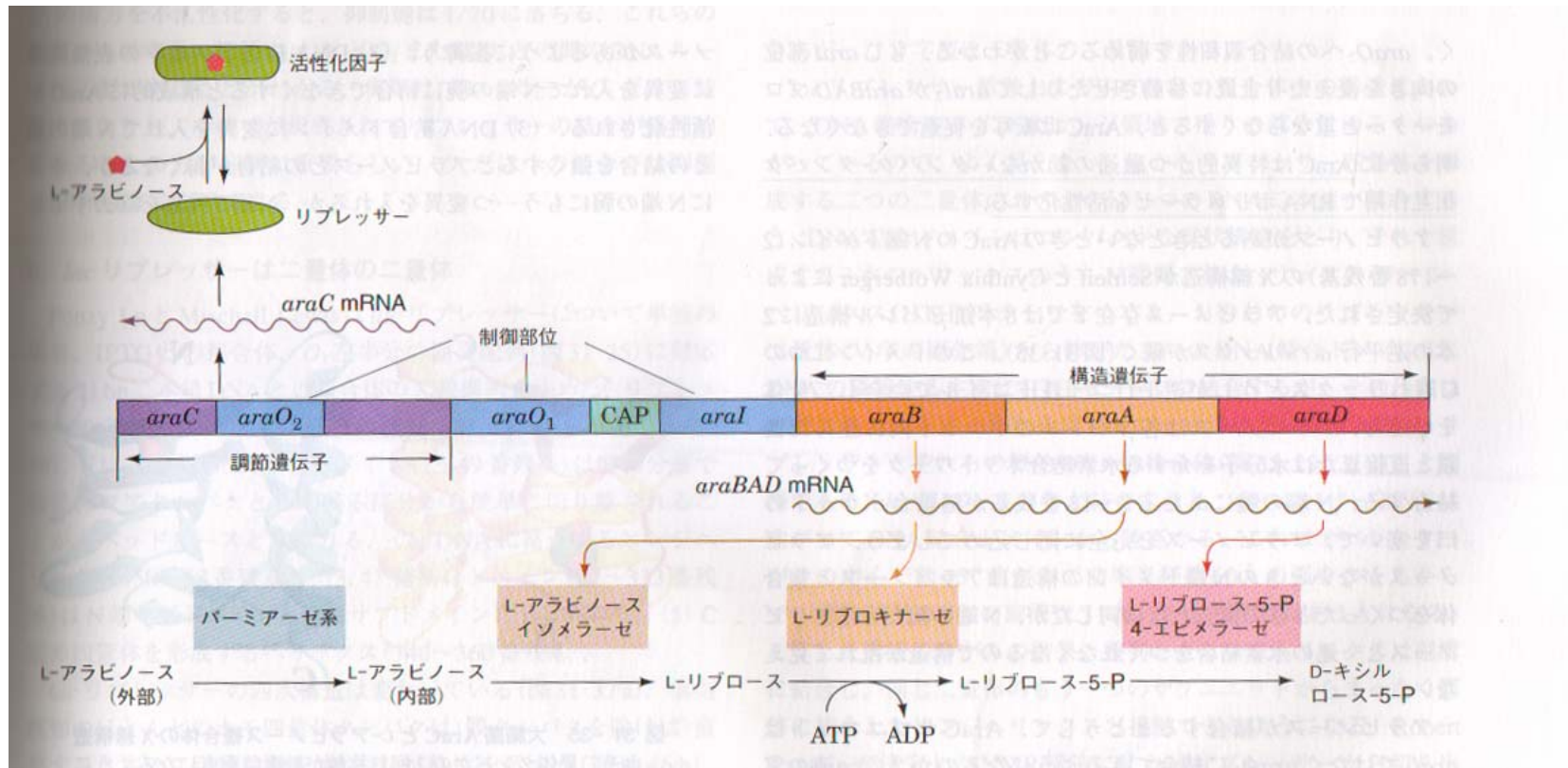
lac リプレッサー

DNA結合ドメイン(ヘッドピース)
はHTHモチーフを持つ



lac リプレッサーサブユニットのX線構造

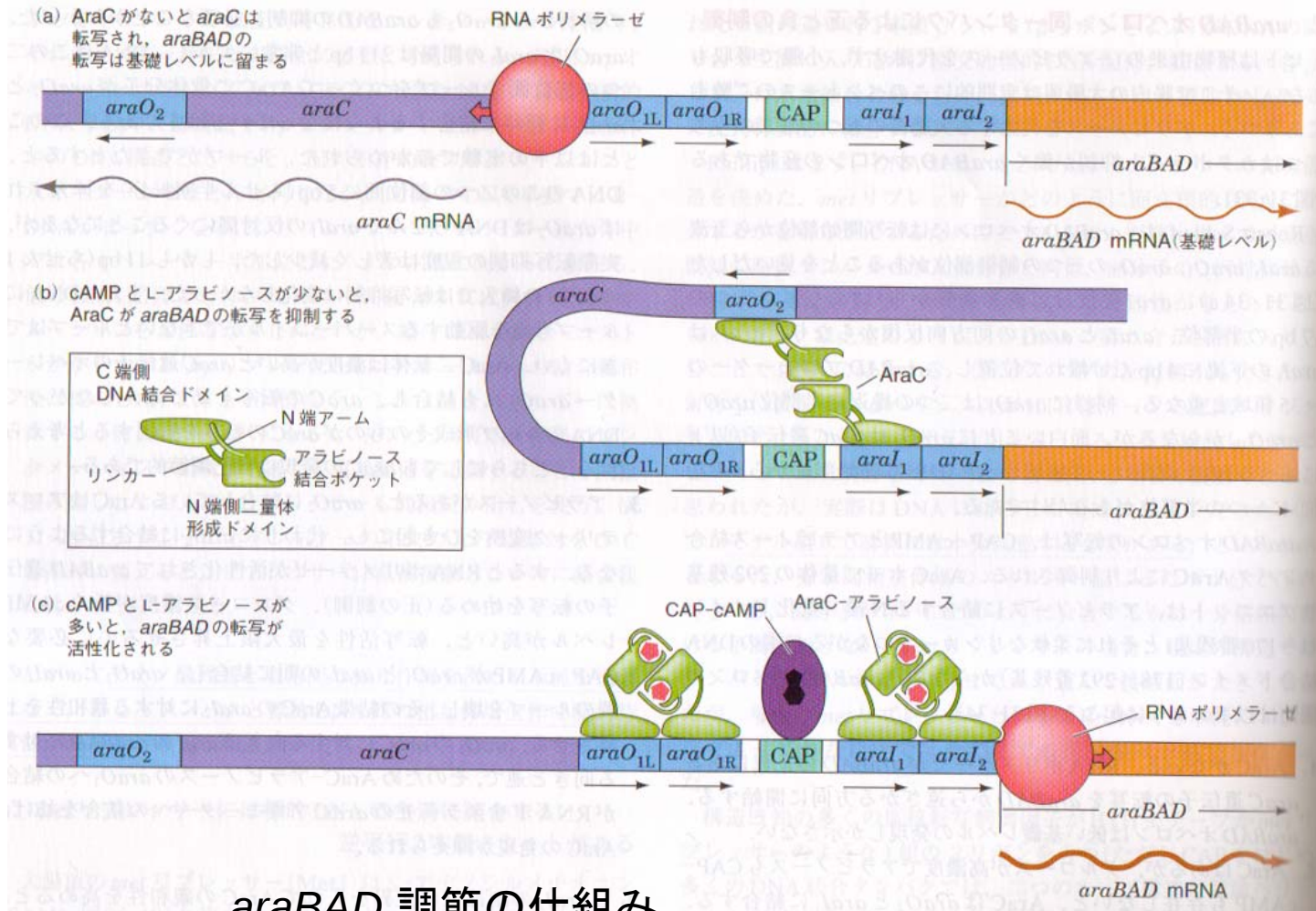
ara オペロン: 同一タンパクによる正と負の制御



大腸菌 *araBAD* および *araBAD* オペロンの遺伝子地図

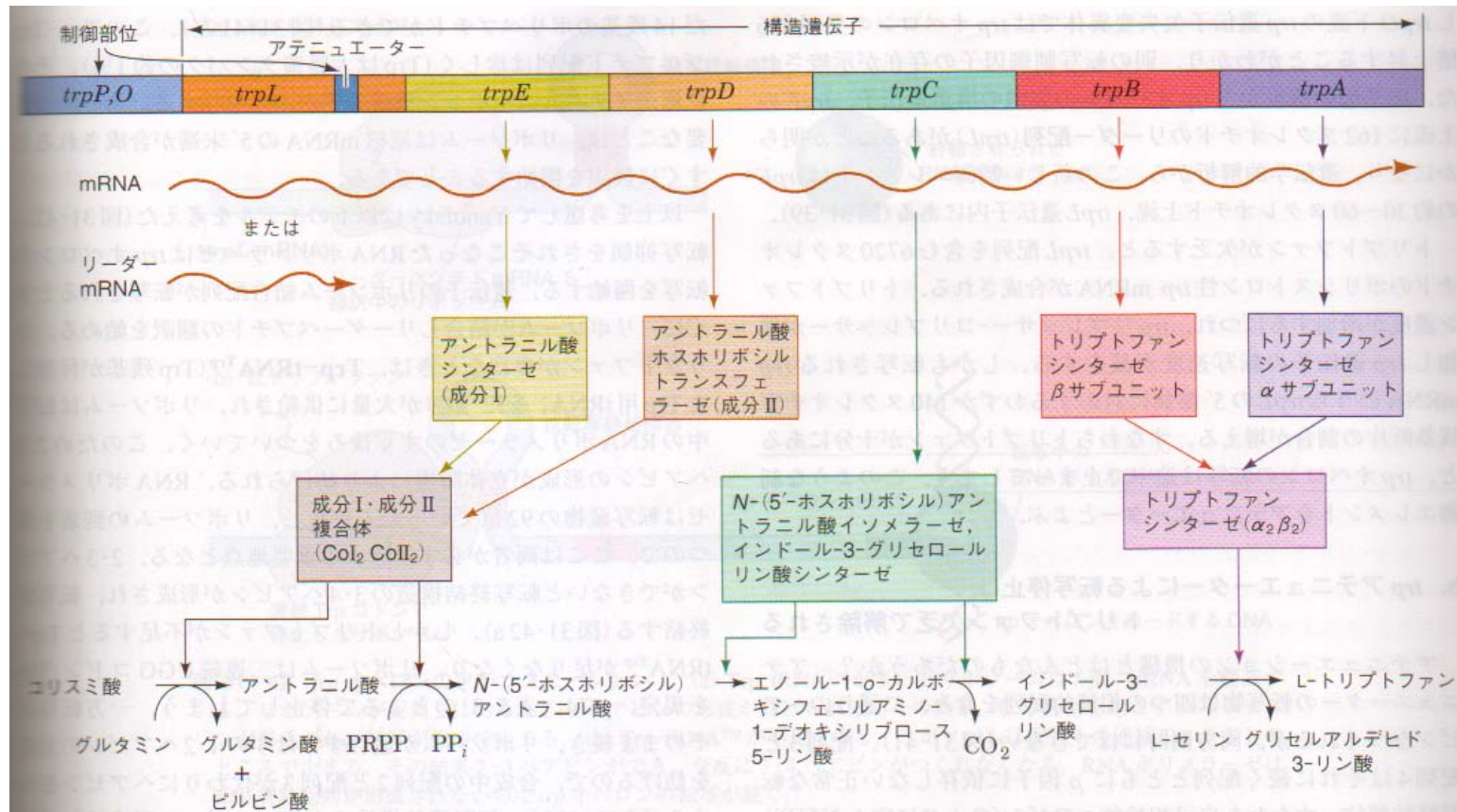
ara オペロン: 同一タンパクによる正と負の制御

araBAD の転写はL-アラビノースとCAP-cAMPのレベルによって制御される



araBAD 調節の仕組み

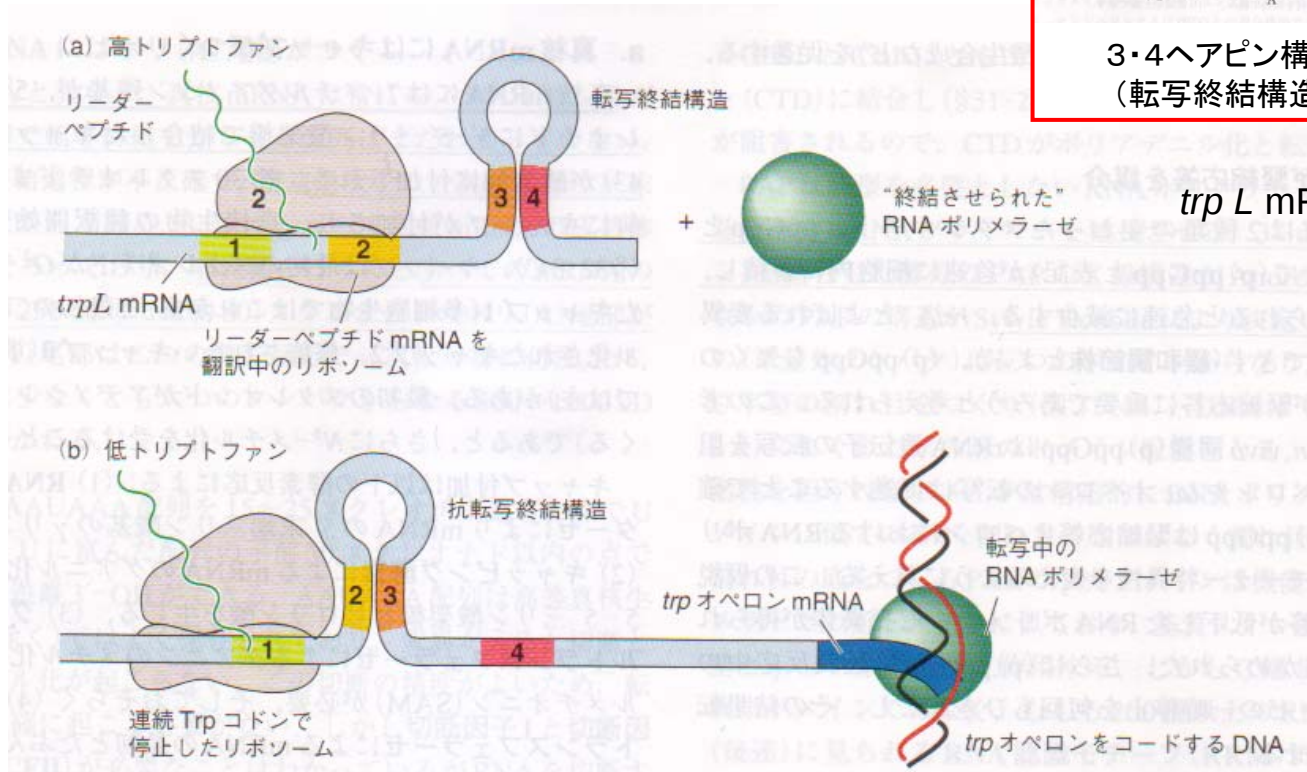
trp オペロン: アテニュエーション(転写減衰)



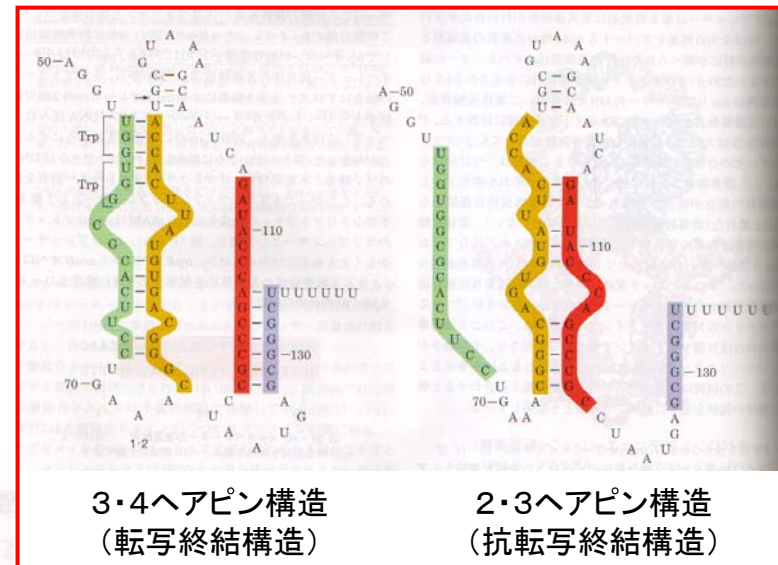
大腸菌 *trp* オペロンの遺伝子地図と各遺伝子がコードする酵素およびそれらが関与する反応

trp オペロン: アテニュエーション(転写減衰)

アテニュエーション:
オペロンの発現を調節する制御エレメント



trp オペロンのアテニュエーション



trp L mRNAの二通りの二次構造

trp オペロン

表 31・3 アテニュエーションを受けるオペロンのリーダーペプチドのアミノ酸配列

オペロン	アミノ酸配列 [†]
<i>trp</i>	Met-Lys-Ala-Ile-Phe-Val-Leu-Lys-Gly-TRP-TRP-Arg-Thr-Ser
<i>pheA</i>	Met-Lys-His-Ile-Pro-PHE-PHE-PHE-Ala-PHE-PHE-PHE-Thr-PHE-Pro
<i>his</i>	Met-Thr-Arg-Val-Gln-Phe-Lys-HIS-HIS-HIS-HIS-HIS-HIS-HIS-Pro-Asp
<i>leu</i>	Met-Ser-His-Ile-Val-Arg-Phe-Thr-Gly-LEU-LEU-LEU-LEU-Asn-Ala-Phe-Ile-Val-Arg-Gly- Arg-Pro-Val-Gly-Gly-Ile-Gln-His
<i>thr</i>	Met-Lys-Arg-ILE-Ser-THR-THR-ILE-THR-THR-THR-ILE-THR-ILE-THR-THR-Gln-Asn- Gly-Ala-Gly
<i>ilv</i>	Met-Thr-Ala-LEU-LEU-Arg-VAL-ILE-Ser-LEU-VAL-VAL-ILE-Ser-VAL-VAL-VAL-ILE- ILE-ILE-Pro-Pro-Cys-Gly-Ala-Ala-Leu-Gly-Arg-Gly-Lys-Ala

† 大文字は、当該オペロンの遺伝子産物が生合成するアミノ酸。

転写

1. タンパク合成におけるRNAの役割
酵素誘導
2. RNAポリメラーゼ
鎖型への結合
転写開始
鎖延長
転写終結
真核生物のRNAポリメラーゼ
3. 原核生物における転写制御
プロモーター
カタボライト(異化代謝産物)抑制
オペロン
4. 転写後修飾
プロセシング

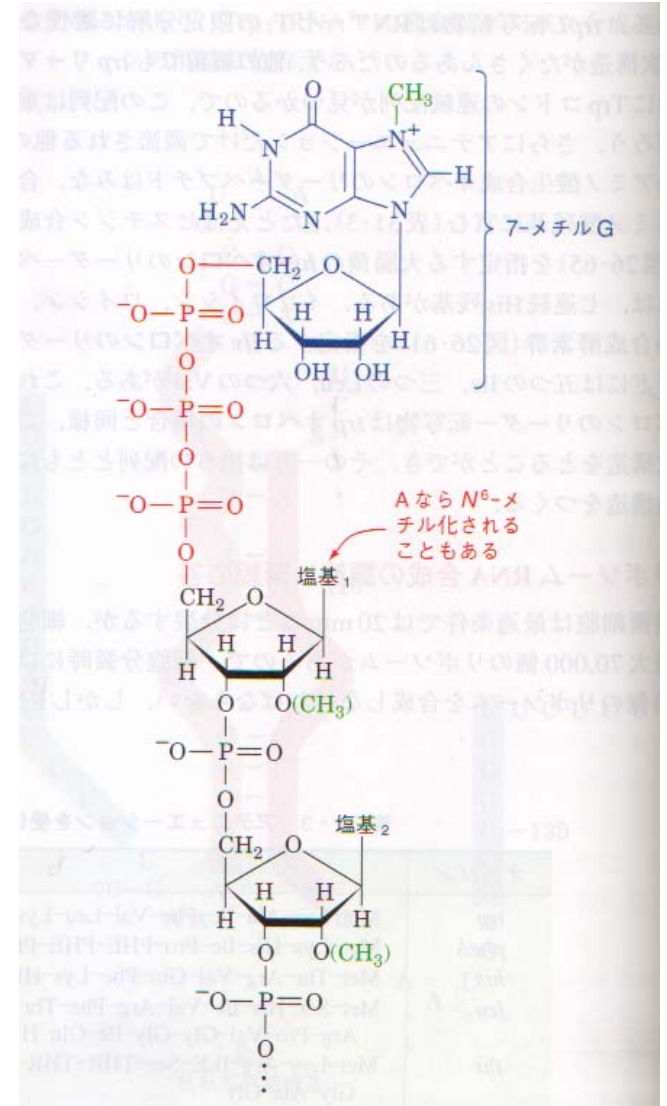
転写後修飾

mRNAのプロセッシング

真核mRNAには

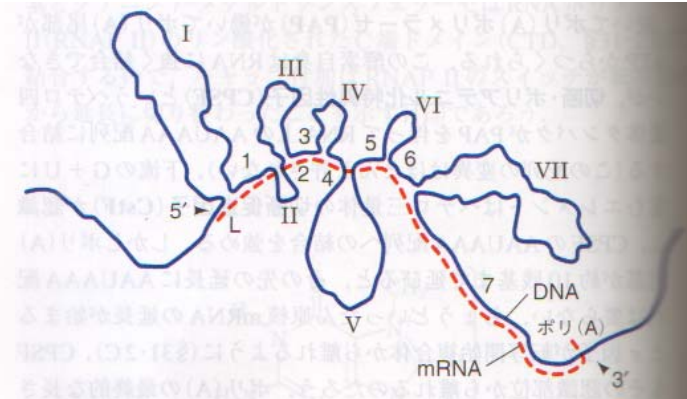
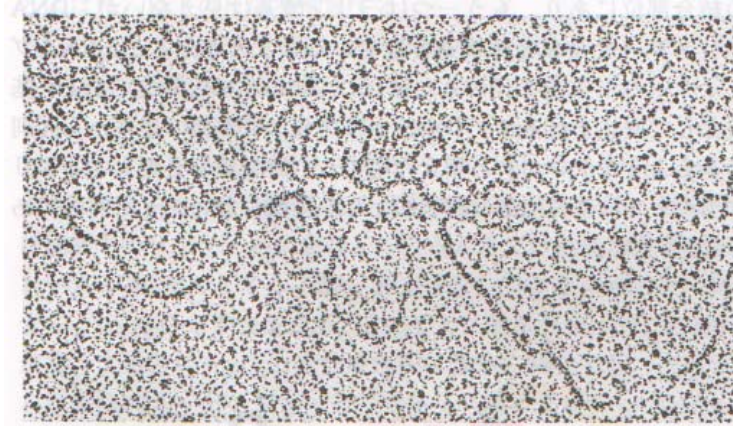
- ・5' 末端にキャップが付加される
- ・ポリ(A) 尾部が付加される
- ・発現配列(エクソン)と介在配列(イントロン)がある

mRNAの一次転写物のイントロンは投げ縄中間体を解して切り取られ、エキソンがつながられる。

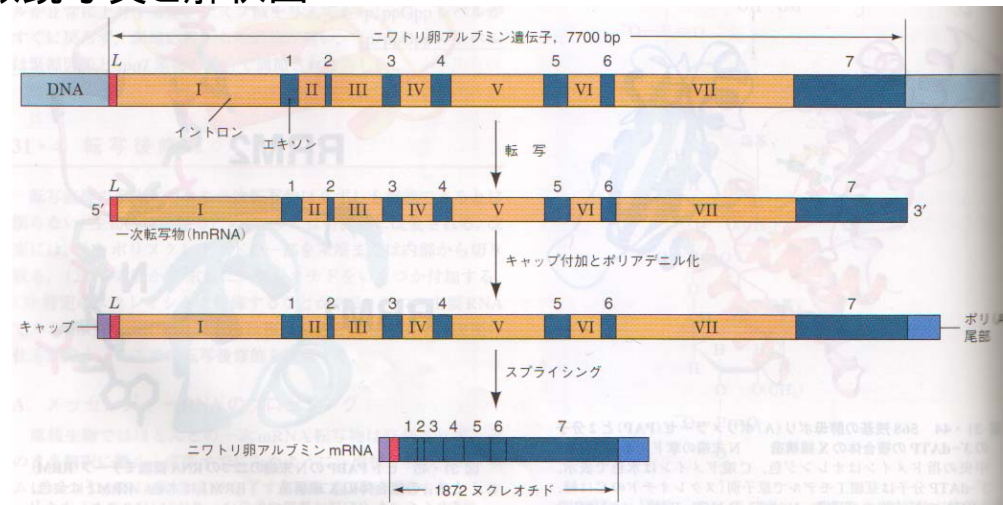


真核mRNAの5' キャップ構造

エキソンとイントロン



ニワトリ卵アルブミン遺伝子のアンチセンス鎖と対応するmRNAのハイブリッドの電子顕微鏡写真と解釈図



ニワトリ卵アルブミン遺伝子を例とする真核成熟mRNAの生成過程

スプライシング

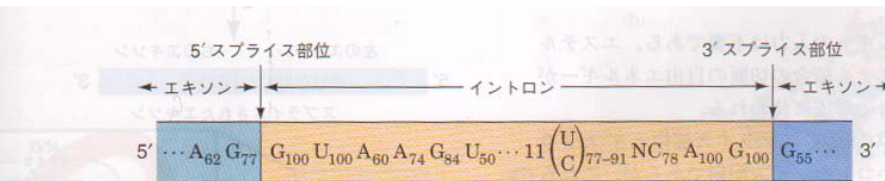


図 31・48 脊椎動物 mRNA 前駆体のエキソン-イントロン結合部のコンセンサス配列 数字は特定の塩基が mRNA 前駆体に出現する頻度. 3' スプライス部位の前には 11 個の主としてピリミジンがくることに注意 [R.A. Padgett, P.J. Grabowski, M.M. Konarska, S.S. Seiler, P.A. Sharp, *Annu. Rev. Biochem.* **55**, 1123 (1986) のデータに基づく]

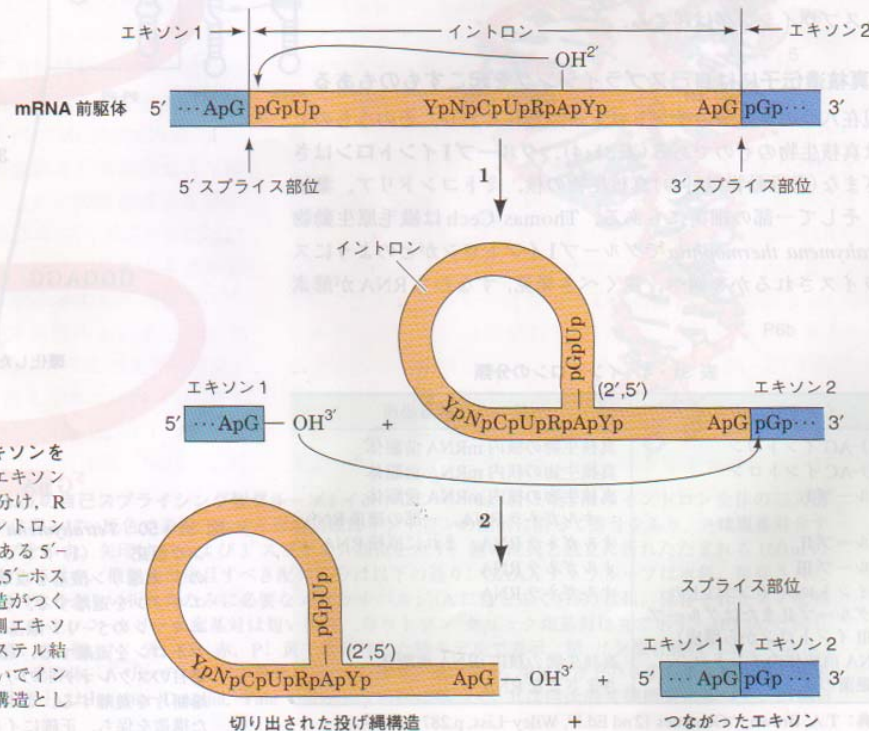


図 31・49 真核 mRNA 前駆体のエキソンをつなぐ一連のエステル交換反応 エキソンとイントロンは青とオレンジ色で色分け, R はプリン, Y はピリミジン. (1) イントロンの特定 A 残基の 2'-OH が 5' 境界にある 5'-リン酸基を求核攻撃し, 変わった 2',5'-ホスホジエステル結合を生じ, 投げ縄構造がつくられる. (2) 遊離した 3'-OH は 3' 側エキソンの 5' 末端残基と 3',5'-ホスホジエステル結合をつくり, 二つのエキソンをつないでイントロンを遊離 3'-OH をもつ投げ縄構造として切り出す.

イントロン

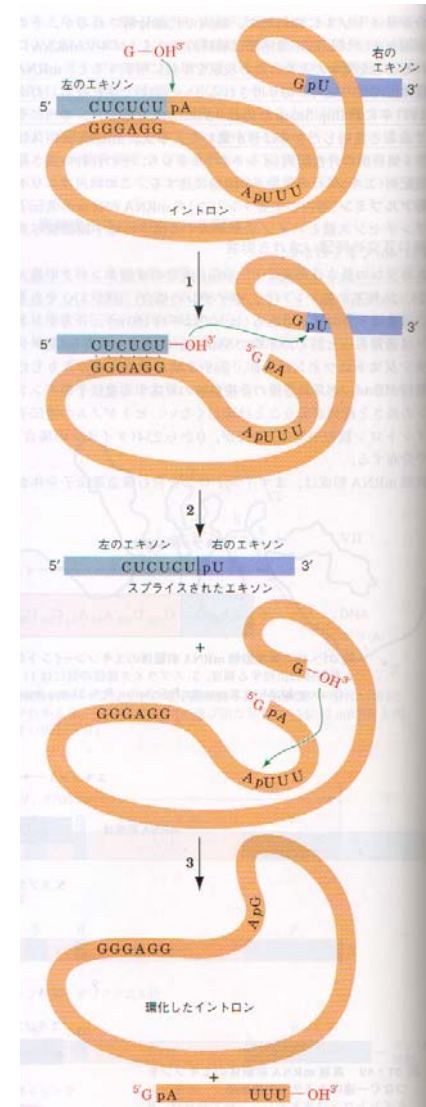
核のmRNA前駆体のスプライシングは**スプライソソーム**
(リボヌクレオタンパク粒子)によって行われる。

表 31・4 イントロンの分類

イントロンのタイプ	見いだされる場所
GU-AG イントロン	真核生物の核内 mRNA 前駆体
AU-AC イントロン	真核生物の核内 mRNA 前駆体
グループ I	真核生物の核内 mRNA 前駆体, オルガネラ RNA, 一部の細菌 RNA
グループ II	オルガネラ RNA, まれに原核 RNA
グループ III	オルガネラ RNA
ツイントロン (二つ以上の グループ II またはグループ III イントロンから構成)	オルガネラ RNA
tRNA 前駆体のイントロン	真核生物の核内 tRNA 前駆体
古細菌のイントロン	さまざまな RNA

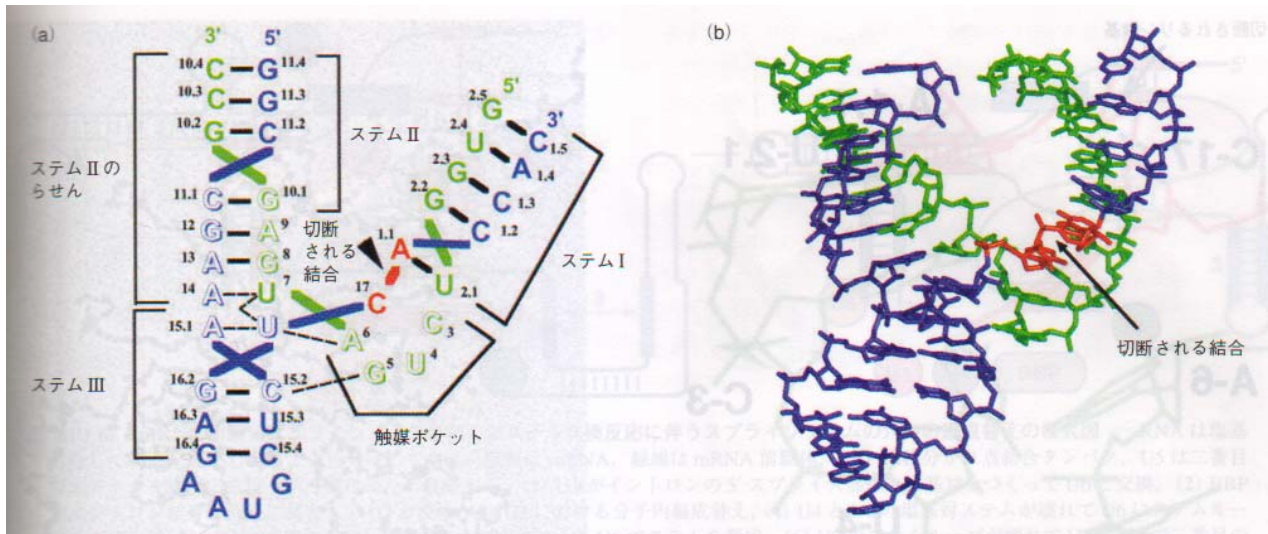
出典: T.A. Brown, "Genomes (2nd Ed.)", Wiley-Liss, p.287 (2002).

自己スプライシングを行う
⇒RNA自身がRNA酵素(**リボザイム**)として働く

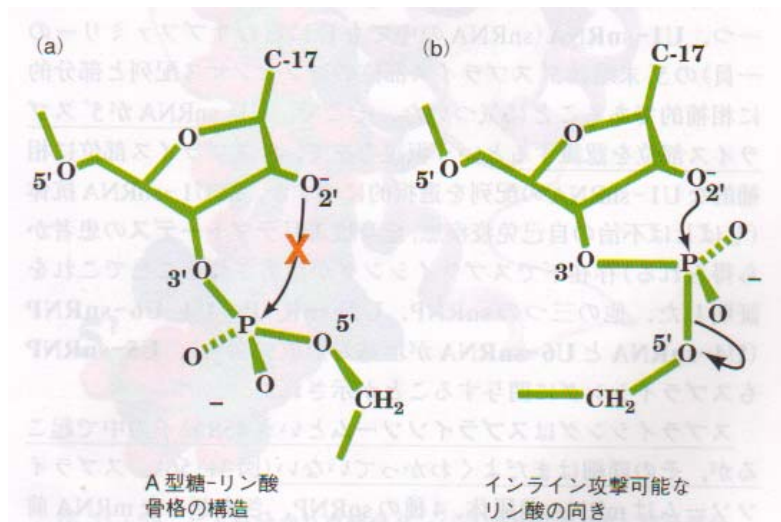


Tetrahymena グループIイントロンの
自己スプライシング

リボザイム

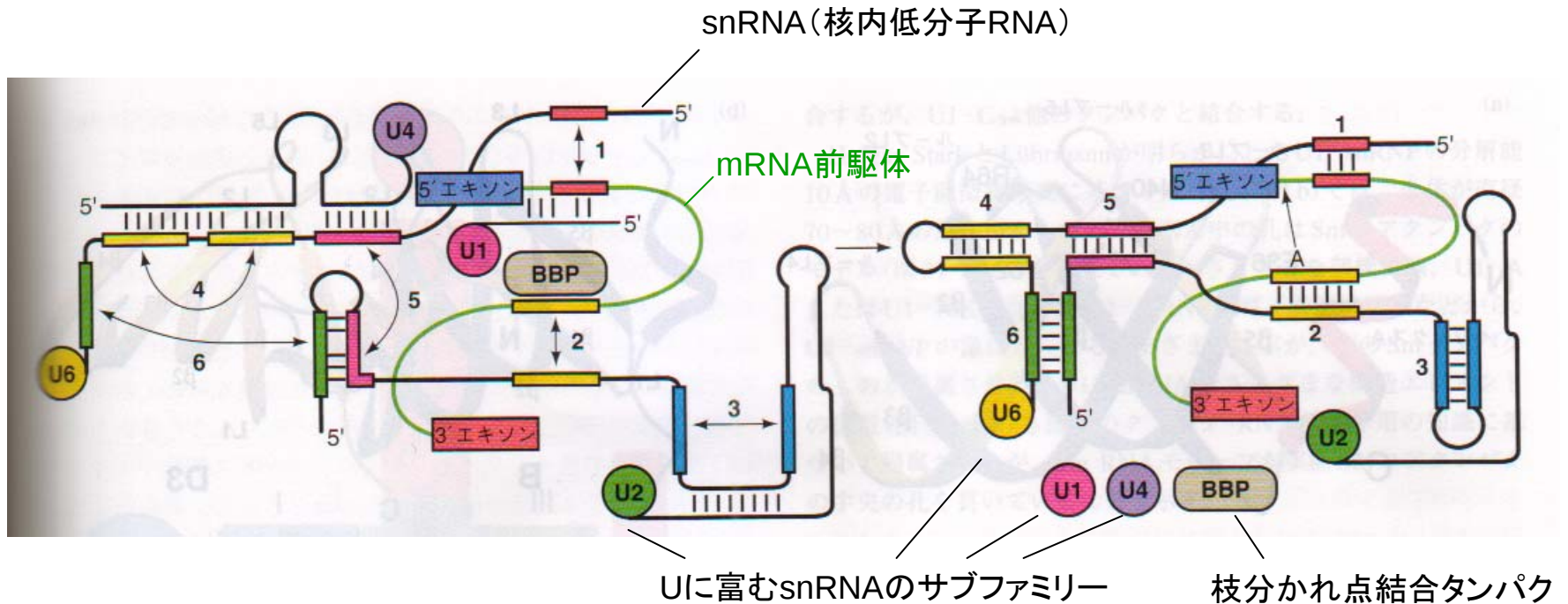


ハンマーヘッドリボザイムのX線構造



ハンマーヘッドリボザイムにおけるインライン求核攻撃に必要なコンホメーション

mRNA前駆体スプライシング



mRNA前駆体スプライシングの最初のエステル交換反応に伴うスプライソソームの6つの編成替えの模式図

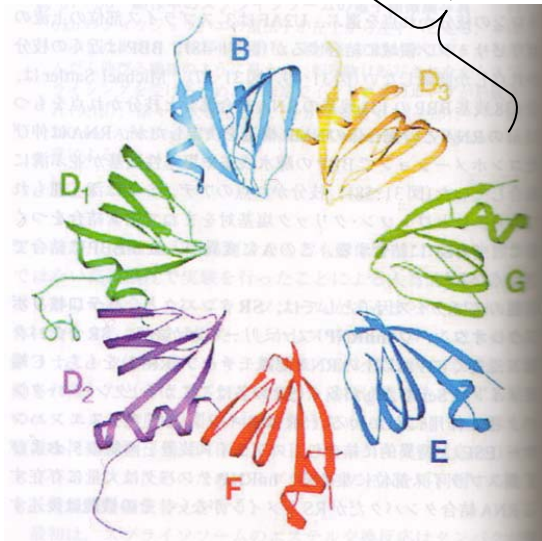
- (1) U1がイントロンの5' スプライス部位と塩基対をつくってU6と交換
- (2) BBPがイントロン枝分かれ点に結合してU2と交換
- (3) U2における分子内編成替え
- (4) U4とU6の塩基対ステムが壊れてU6にステムループを形成
- (5) U4とU6の間の二番目のステムが壊れてU2とU6でステムを形成
- (6) U2のステムループが壊れてU2とU6で二番目のステムループを形成

編成替えの順序は不明

スプライソソーム

スプライソソームはsnRNP(核内低分子リボヌクレオタンパク)から構成され、snRNPコアタンパクは7つのSmタンパク(B/B', D₁, D₂, D₃, E, F, G)から構成される。

Sm タンパクの構造

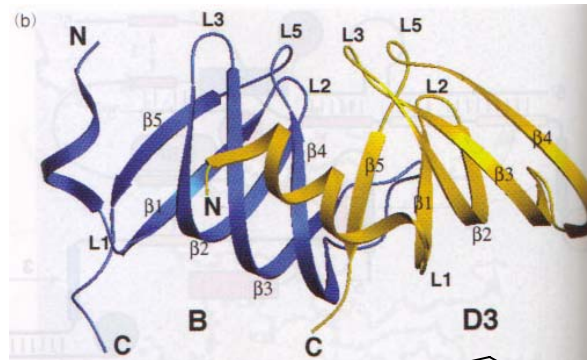


snRNPコアタンパクのモデル

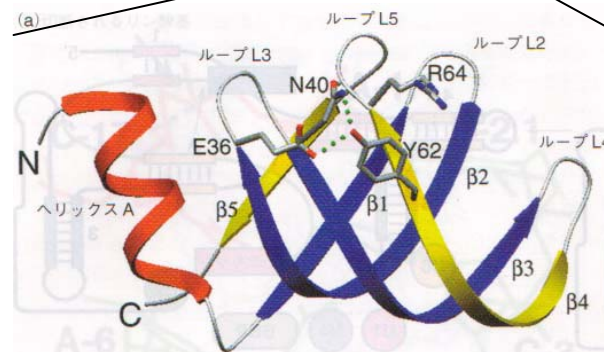
D₁D₂複合体

D₃B複合体

EFG複合体

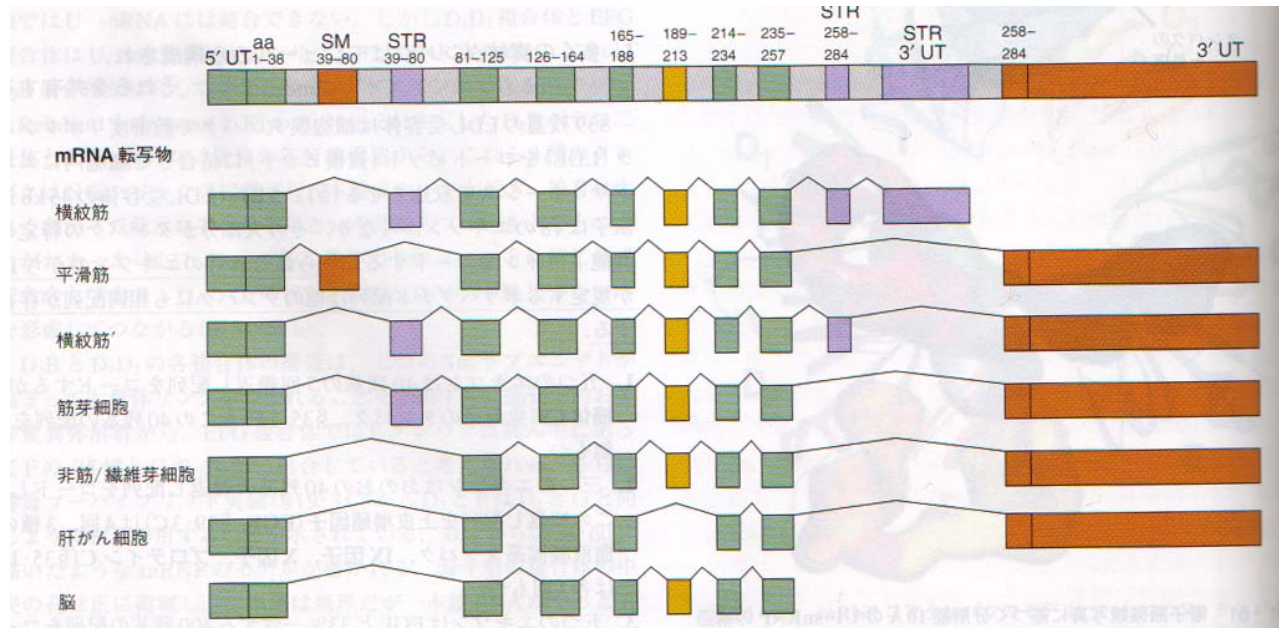


D₃B二量体



D₃タンパクの構造

選択的スプライシング



ラット α トロポミオシン遺伝子の編成と細胞特異的な α トロポミオシンを生じる
7通りの選択的スプライシング経路

mRNAのRNA編集

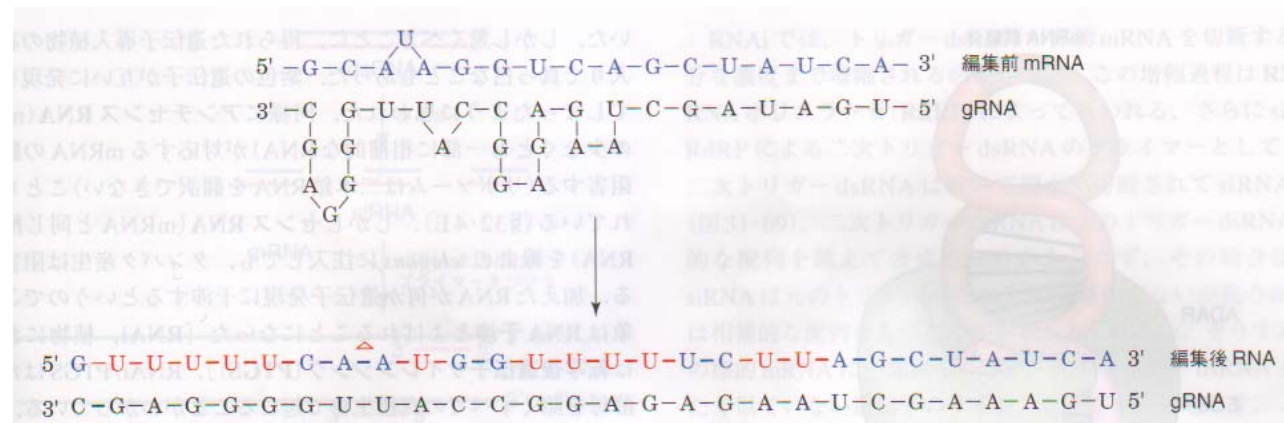
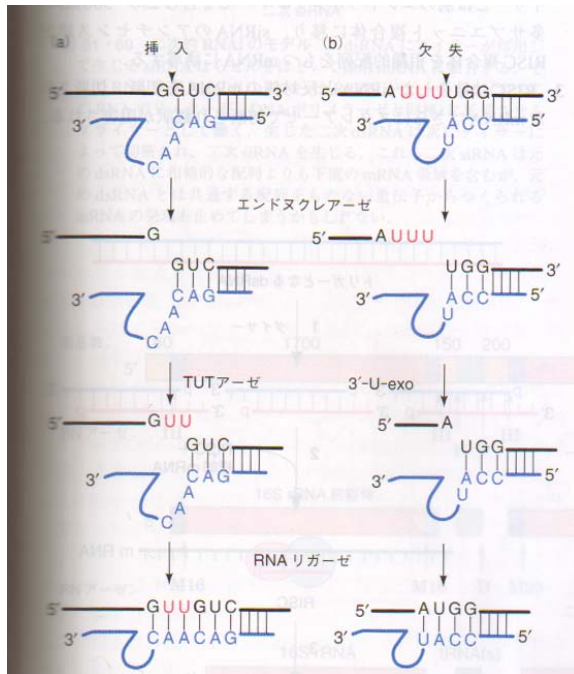
特定の塩基の置換、挿入、欠失

ガイドRNA(gRNA)の指令、

末端ウリジルトランスフェラーゼ(TUTアーゼ)によるUの挿入

3' -U-エキソヌクレアーゼによるUの除去

シチジンデアミナーゼやアデニンデアミナーゼの塩基の脱アミノ化による置換編集



gRNAがトリパノソーマの編集前mRNAの編集を指令する仕組み

トリパノソーマRNAの編集経路

RNA干渉(RNAi)

RNAが遺伝子発現に干渉する現象

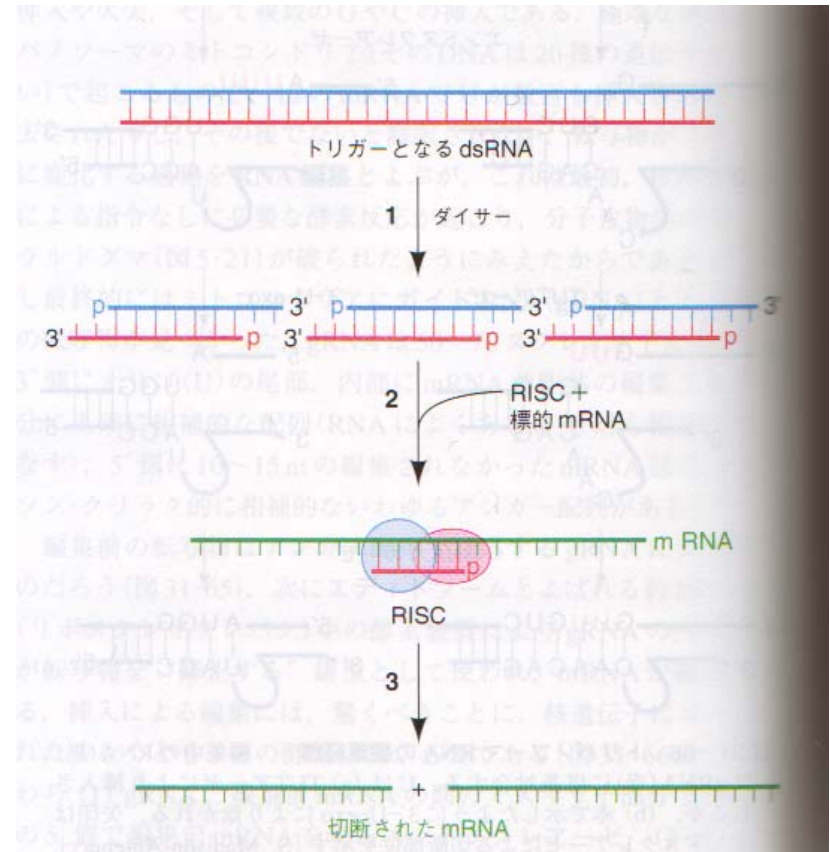
ダイサー(RNアーゼ)がdsRNAを多数の
低分子干渉RNA(siRNA)に分解する。



生じたsiRNAがRNA誘導サイレンシング
複合体(RISC)をsiRNAに相補的なmRNA
に導く。

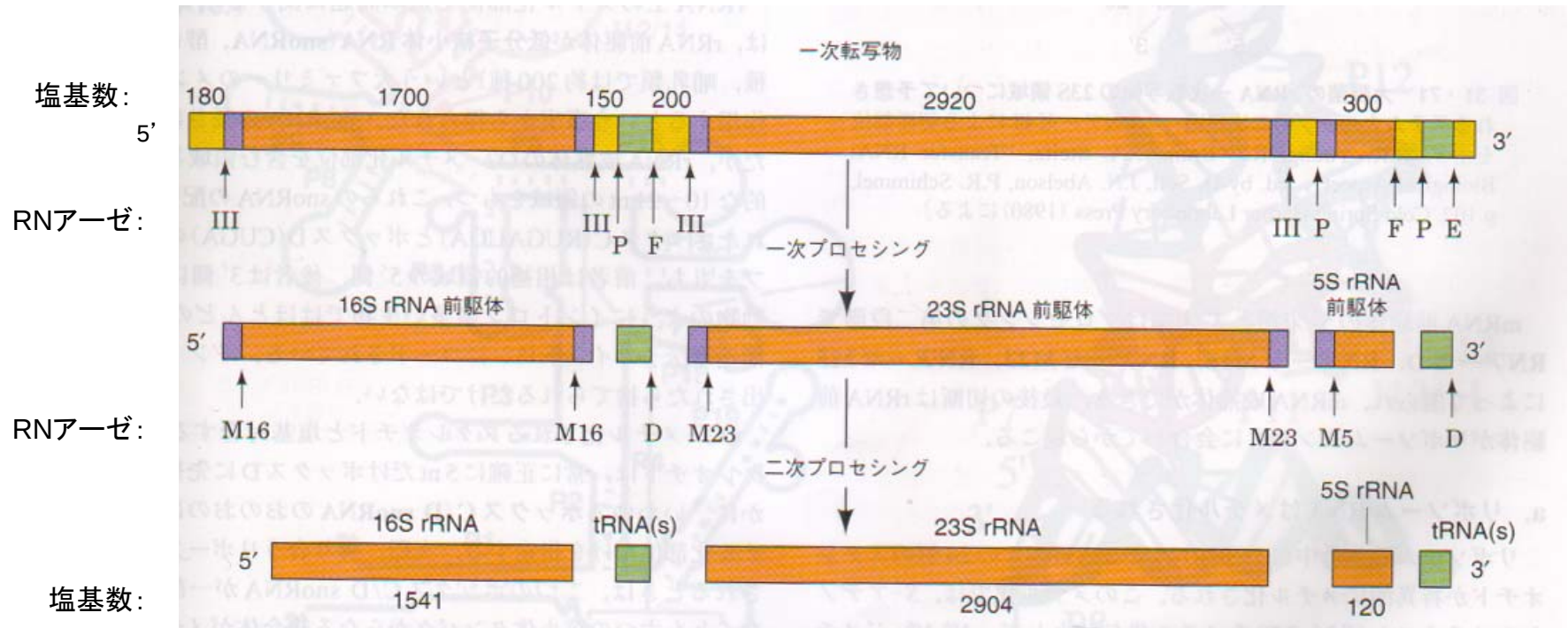


mRNAを加水分解により切断し、mRNA
の転写を阻害する。



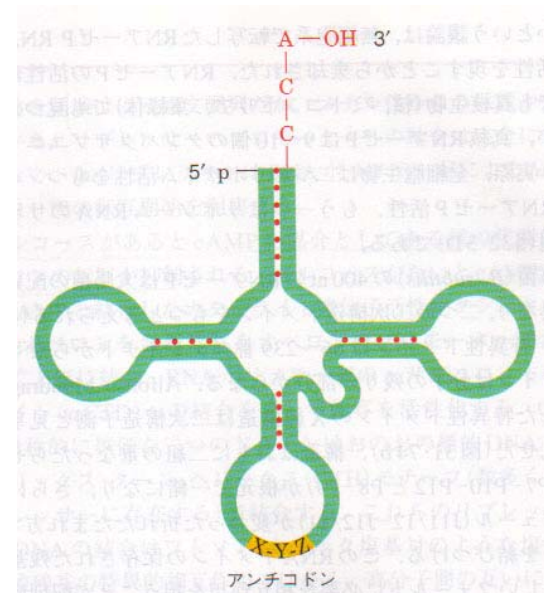
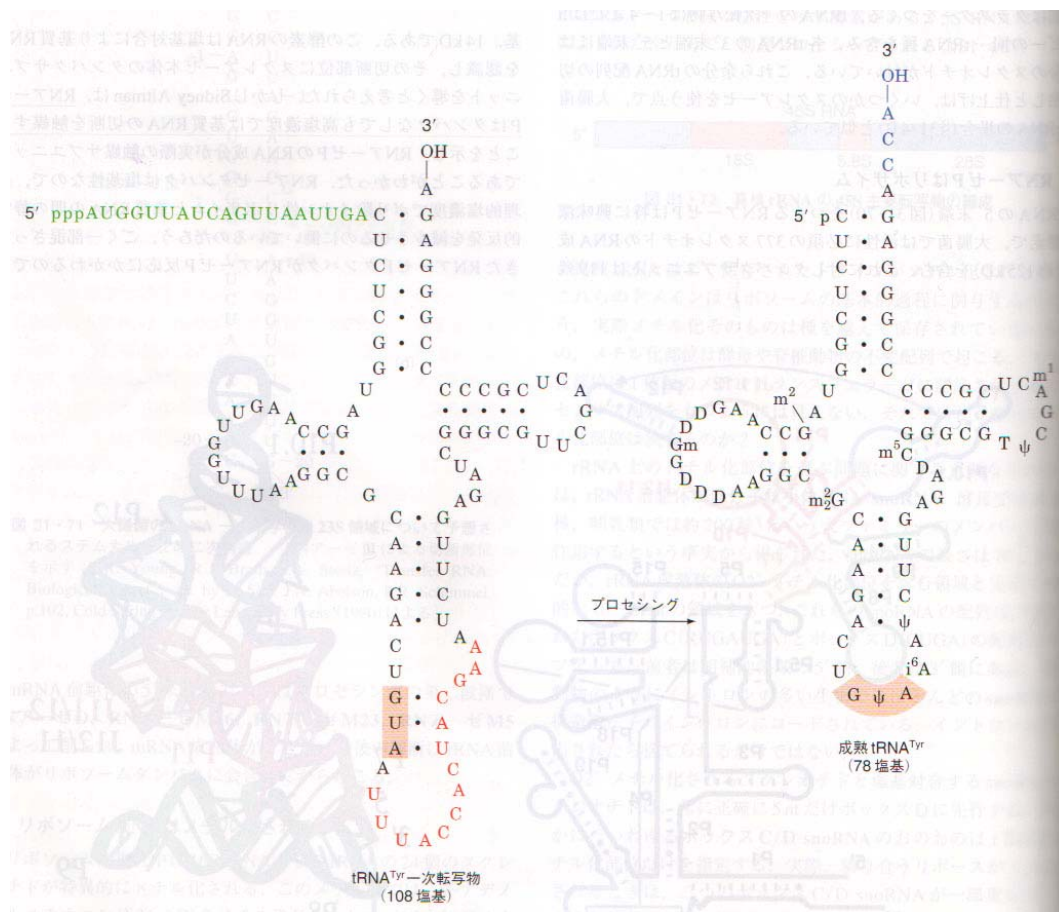
RNA干渉(RNAi)のモデル

リボソームRNAのプロセッシング



大腸菌rRNAの転写後プロセッシング

酵母tRNA^{Tyr}の転写後のプロセッシング



tRNAのクローバー葉二次構造の模式図

酵母tRNA^{Tyr}の転写後のプロセッシング