

「遺伝学」練習問題解答 10 章

- 1 真核生物には、3種類のDNA依存性RNAポリメラーゼが存在する。それぞれのポリメラーゼと転写される遺伝子の種類は次の通り。

RNAポリメラーゼⅠ リボソームRNA (rRNA) 遺伝子

RNAポリメラーゼⅡ タンパク質をコードする遺伝子、核内低分子 (sn) RNA 遺伝子

RNAポリメラーゼⅢ 5S rRNA 遺伝子、tRNA 遺伝子、分子量の小さいRNAの遺伝子

- 2 集合は、転写開始点の約30塩基対ほど上流に存在するTATAボックスにTFIIDが結合することから始まる。TFIIDのサブユニットのうち、TATAボックスに結合するものをTBP (TATA-box binding protein) と呼ぶ。その後、TFIIAとTFIIBが集合し、TFIIFの結合したpolII複合体 (ホロ酵素) がプロモーター領域のDNAに結合するのを助ける。さらに、ほかのサブユニットが集合し、DNAの二重らせんをほどく役割を担う。ホロ酵素がプロモーターから脱出すると、RNAの合成伸長過程に入る。

- 3 polIIにより転写されたmRNAは、その伸長過程で、5'末端のキャップ形成、イントロンのスプライシング、3'末端のポリアデニル化の修飾を受ける。

① キャップ形成

mRNAの5'末端にメチル化グアニンが付加されること。mRNAの5'末端からγ位にあるリン酸基がRNAトリホスファターゼにより除去され、グアニル酸転移酵素によるGTPが付加される。さらに、メチル基転移酵素によるグアニル酸の7'位へのメチル基が付加される。GTPとRNAの結合は、通常と異なる5'-5'結合である。

② スプライシング

mRNA前駆体のエキソン-イントロン境界領域に特定の目印となる塩基配列がみられる (図10.5参照)。この配列はイントロンの5', 3'の配列をとってGU-AGルールと呼ばれる。イントロン内の中間からやや3'寄りの分岐部位と呼ばれる位置にAが存在する。

スプライシングは、2回の連続したエステル転移反応によりmRNA前駆体のホスホジエステル結合が切断され、新しい結合が形成されることにより完成する。まず、分岐部位の保存されたAの2'-OHがエキソン-イントロン境界領域の塩基に作用し、イントロンの5'末端にあるGのホスホリル基を攻撃する。その結果、エキソン-イントロン境界のホスホジエステル結合が切断され、自由になったイントロンの5'末端が分岐部位のAと結合する。続いて、この5'側エキソンの新たに遊離した3'-OHが3'側スプライス部位のホスホリル基を攻撃する。この結果、5'側と3'側のエキソンが連結され、イントロンが投げ縄 (ラリアット) 構造をとって切り離される。

③ ポリアデニル化

RNAポリメラーゼⅡで転写されたほとんどのmRNAの3'末端はポリアデニル化される。この

過程は転写終結と密接に結びついている。mRNA の 3' 末端付近にポリ A 付加シグナル(AAUAAA) という特異的な塩基配列が存在する (図 10.3 参照)。この塩基配列を指標にしてポリ (A) 付加複合体が集合する。複合体の働きにより mRNA の 3' 末端に約 200 スクレオチド程度のポリ (A) が付加される。

- ④ 自己スプライシングとは、RNA 前駆体の中のイントロン自身が特殊な構造に折りたたまれ、切り出される自己触媒反応のことである (表参照)。自己スプライシング作用 (リボザイム) のあるイントロンはグループ I と II に分けられる。グループ II イントロンでは、スプライシングの化学反応と生成される RNA 反応物は核内 mRNA 前駆体のものと同じである。ただし、スプライソソームを必要としない。イントロンは投げ縄構造をとって切り出される。一方、グループ I イントロンの分岐部位は A ではなく G である。G がポケット様構造をとって 5' スプライス部位を攻撃する。イントロンは投げ縄構造ではなく線状の構造をとって切り出される。

表 代表的なイントロンの種類

種類	存在	機構	触媒反応
核内 mRNA 前駆体	大部分の真核生物の遺伝子	分岐部位の A を介した エステル転移反応	スプライソソーム
グループ II イントロン	一部の細胞内小器官の遺伝子、 原核生物の遺伝子	分岐部位の A を介した エステル転移反応	自己触媒 (リボザイム)
グループ I イントロン	一部の真核生物の rRNA 遺伝子、 細胞内小器官の遺伝子、 少数の原核生物遺伝子	分岐部位の G を介した エステル転移反応	自己触媒 (リボザイム)

- ⑤ 次にあげる転写因子から一つを選び、説明する。それぞれの構造は図 10.8 を参照。

① ホメオドメインモチーフ

ヘリックス・ターン・ヘリックス DNA 結合ドメインの一種で、多くはヘテロ二量体として DNA に結合する。ショウジョウバエの発生プログラム、酵母の接合型を制御する遺伝子に見られる。

② ジンクフィンガードメインモチーフ

ジンクフィンガーは、亜鉛原子が DNA 結合領域のポリペプチド鎖と複合体を形成する構造のことである。リボソーム RNA 遺伝子の発現に関係する TFIIIA や酵母の活性化因子 GAL4 に見られるジンククラスタードメインが相当する。

③ ロイシンジッパードメインモチーフ

ロイシンジッパードメインモチーフは、 α ヘリックスの表面に線上に並ぶように配置されている一連のロイシンからなる。一つの構造単位の中で、二量体タンパク質を形成する面と DNA に結合する面が組み合わさったモチーフである。酵母の転写活性化因子、GCN4 などに見られる。

④ ヘリックス・ループ・ヘリックスモチーフ

二つの単量体の α ヘリックスが DNA の主溝に挿入される。DNA の溝に入り込む α ヘリックス

とは別に、より短い α ヘリックスが組み合わさって二量体形成にかかわっている。真核生物の多くの転写活性化因子に見られる。

- 6 哺乳類などの二倍体細胞は、染色体組（ゲノム）の1セットを母親から、1セットを父親から受け継ぐ。性染色体に座乗する遺伝子以外（常染色体の遺伝子）は、対立遺伝子が一对、存在するはずである。遺伝子構造の変異がなければ、父方と母方の対立遺伝子の発現量は等分のはずである。ところが、両親から伝達された遺伝子の一方の発現が抑制されている例が知られるようになった（刷り込み）。刷り込みにはDNAのメチル化が重要な役割を果たしている。ヒト11番染色体上に近接して座乗する *H19* と *Igf2* という二つの遺伝子がよく研究されている。*H19* 遺伝子は母方のものが発現し、逆に *Igf2* 遺伝子は父方のものが発現している。*H19* 遺伝子の下流にエンハンサーが、*H19* と *Igf2* 遺伝子の間にインスレーターが存在する。母方の遺伝子ではこの領域のDNAがメチル化されていないが、父方の遺伝子ではインスレーターと *H19* 遺伝子領域がメチル化されている。母方ではインスレーター結合タンパク質の影響により、エンハンサーが *Igf2* には効果を及ぼせず、*H19* のみの発現を誘導する。一方、父方ではメチル化の結果、インスレーター結合タンパク質がインスレーター領域に結合できず、エンハンサーが *Igf2* 遺伝子に効果を及ぼして発現を誘導する。*H19* 遺伝子領域がメチル化されているため、*H19* 遺伝子の発現が抑制される。

染色体領域でメチル化された箇所が、メチル化維持酵素の働きにより、細胞分裂後もメチル化が維持されることがある。この結果、遺伝子の変異もないのに遺伝子の発現状態が受け継がれる。これを後成的（エピジェネティック）な発現調節と呼ぶ。

- 7 選択的スプライシングには構成型と調節型がある。構成型では、いつも同じ遺伝子DNAから複数のmRNAが転写される。また調節型からは、発育時期、細胞や組織の種類により異なるmRNAが転写される。

哺乳類の筋タンパク質であるトロポニンTを例に構成的選択的スプライシングを紹介する。トロポニンT遺伝子では五つのエクソンが四つのイントロンによって分断されている。一次転写産物の選択的スプライシングにより、 α トロポニンTと β トロポニンTをコードするmRNAが生成される。

調節型としては、選択的スプライシングによるショウジョウバエの性決定の遺伝子カスケード（連鎖反応）がよく知られている。ハエの性は性染色体と常染色体のバランスで決定されることは、従来からよく知られていた。X染色体2本と常染色体2組の比率が1だと雌になり、この比率が0.5だと雄（XY）になる。これは、胚発生の初期にX染色体に座乗する *sis-a* および *sis-b* という *Sxl* (Sex-lethal) 遺伝子の活性化因子の転写調節による。*Sxl* 遺伝子は第2常染色体に座乗する *dpn* (deadpan) 因子により、転写が抑制される。しかし、2倍量生産される雌では、*Sis A*, *B* および *Dpn* のバランスにより、*Sxl* 遺伝子の転写がプロモーターPeから起こる。PeからのmRNA前駆体では正常にスプライシングが起こり、初期の *Sxl* タンパク質が翻訳される。発生後期にはPeのプロモーターが活性を失い、Pmプロモーターから転写される。*Sxl* タンパク質はスプ

ライシング調節因子であり、Sxl mRNA 前駆体のスプライシングとともに、それ自身スプライシング調節因子である tra 転写産物の選択的スプライシングをつかさどる。Sxl タンパク質が働くと、雌では機能のある Tra タンパク質が生産される。Tra タンパク質は dsx (double sex) 転写産物のスプライシングを制御している。このスプライシング制御により雄特異的 Dsx タンパク質、雌特異的 Dsx タンパク質が産生される。雄特異的 Dsx タンパク質は雌特異的遺伝子群の転写を抑制し、雄性を誘導する。一方、雌特異的 Dsx タンパク質は雄特異的遺伝子群を抑制し、また雌特異的遺伝子群を活性化し、雌性を誘導する。

- 8 転写された二重鎖 RNA (dsRNA) が起こす後成的遺伝子調節を RNA 干渉 (RNAi) という。RNAi は、細胞に二本鎖 RNA を人為的に導入すると、それと相補的な配列をもつ mRNA の発現が選択的に抑制される現象として、線虫で最初に発見された。しかし、RNAi は線虫だけでなく、酵母、高等植物、脊椎動物など他の生物でも普遍的に見られる現象であることがわかってきた。RNAi は、mRNA の分解や翻訳抑制といった転写後調節だけでなく、DNA メチル化やクロマチン修飾による転写調節にも関与していることが明らかになった。ゲノム DNA の非翻訳領域や、翻訳領域内のエクソン部分やイントロン領域から、二重鎖 RNA 含む短い RNA (miRNA あるいは microRNA と呼ばれる) が転写される。この miRNA がダイサーと呼ばれる RNA アーゼⅢ型のエンドヌクレアーゼにより、20 ヌクレオチド程度の短い二本鎖 RNA (dsRNA) に分解される。この短い dsRNA は siRNA (short interfering RNA) と呼ばれる。この siRNA にアルゴノートを含む RISC (RNA-induced silencing complex) が結合し、複合体を形成する（この際、dsRNA が一本鎖になる）。この siRNA-RISC 複合体が相補的な遺伝子に作用し、mRNA の分解、翻訳の阻害、また染色体に移行し、クロマチンの再構築による遺伝子発現の抑制などの発現調節を行っている。これらの RNAi は、線虫の幼虫後期から成虫への移行に働く遺伝子の発現調節、ハエでのアポトーシス抑制、植物での発生制御に重要な役割を果たしていることが明らかになった。