

前回のクイズ

1. ヒトのタンパク質を大腸菌で作らせることが可能なのは？

注意すべき点？

2. tRNAシステムの特徴と生物学的機能

Triplet code、ORF、縮重（縮退）、同義コドン、isoacceptor tRNA、Wobble（ゆらぎ）結合、高エネルギー結合、アミノアシルtRNA合成酵素：アミノ酸 = 1：1

コドンとアミノ酸を対応づけるアダプター

リボソームによる翻訳機構

大サブユニットと小サブユニット

()

RNAが 、 サイト

コドン：アンチコドン 、

転移反応

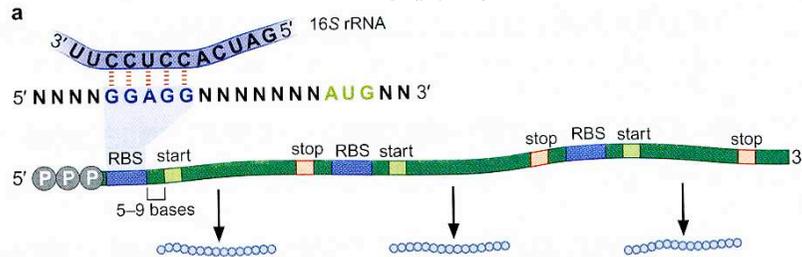
翻訳伸長因子

()

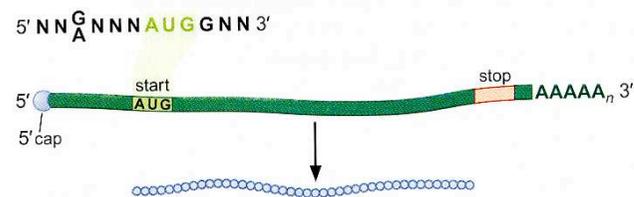
翻訳終結因子

原核生物と真核生物のmRNA構造比較

原核生物：



真核生物：



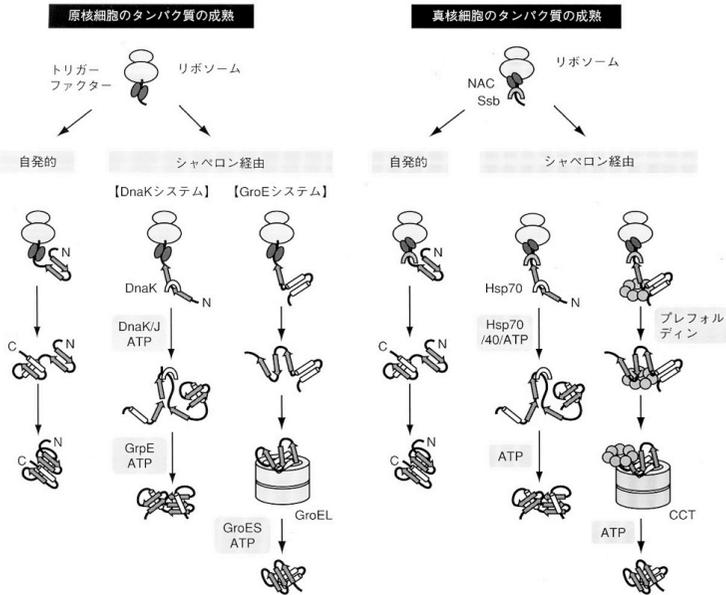
原核生物と真核生物の翻訳開始機構について

共通点：開始コドンと専用tRNA、リボソーム小サブユニットと翻訳開始因子がまずmRNA上で複合体を形成した後に大サブユニットが結合、GTPase活性をもつ開始因子群

相違点：スキャンニング法（RBSと5'CAP）、環状化、転写との共役、fMet、複雑性と多様な制御因子

タンパク質成熟

Christian B. Anfinsen (1972年 ノーベル化学賞)



分子シャペロン Molecular Chaperone

熱ショックタンパク質 (HSP)、ストレス応答タンパク質

シャペロン: 元々は社交界における後見介添え役



ムーラン・ド・ラ・ギャレット ルノワール (1876)

5

6

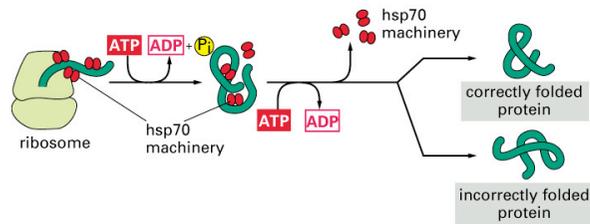


Figure 6-83. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

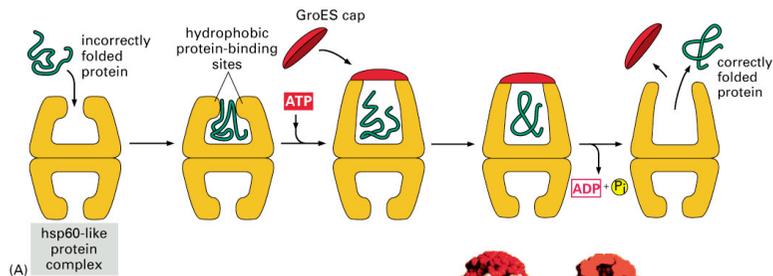


Figure 6-84 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

その他のタンパク質加工

切断: 前駆体、シグナルペプチド、タンパク質スプライシング

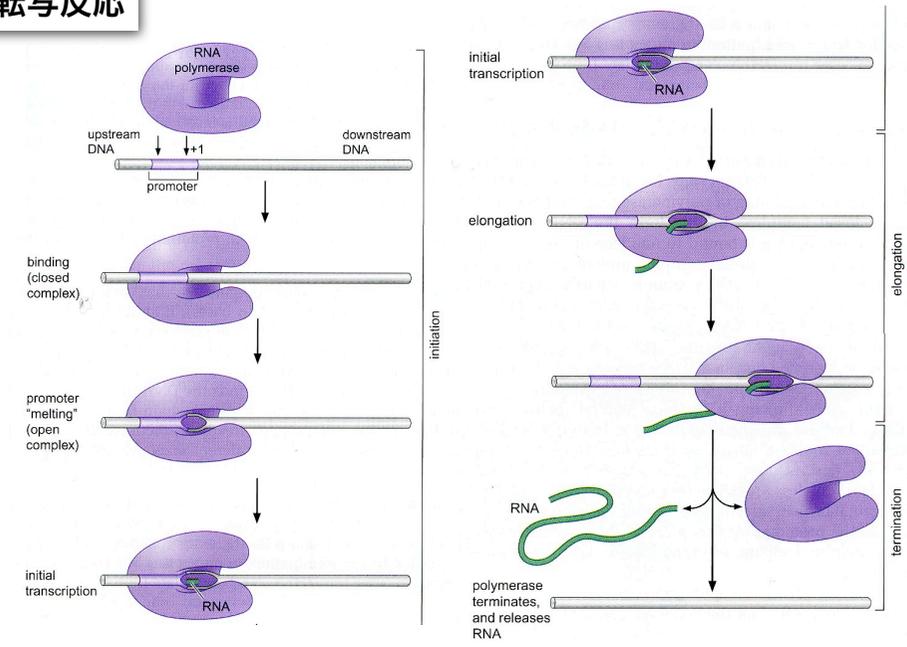
修飾: S-S結合、ヒドロキシル化、リン酸化、アセチル化、メチル化、ユビキチン化、グリコシル化、etc.

輸送: 小胞輸送(膜輸送)、核移行、オルガネラへの輸送

7

8

転写反応



9

10

複製 (DNA Replication) : DNAを鋳型としてDNAを合成する過程 5'→3'

DNAポリメラーゼ

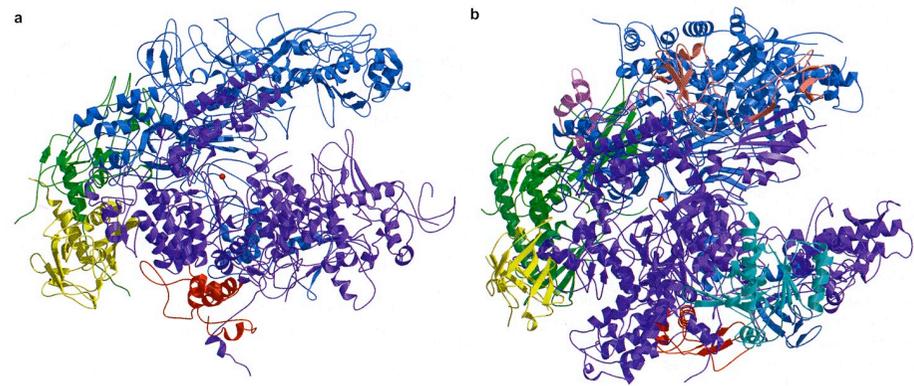
(DNA dependent DNA polymerase)

転写 (Transcription) : DNAを鋳型としてRNAを合成する過程 5'→3'

RNAポリメラーゼ

(DNA dependent RNA polymerase)

RNAポリメラーゼの構造



Roger Kornberg: 2006年 ノーベル化学賞

真核生物における転写の研究

TABLE 12-1 The Subunits of RNA Polymerases

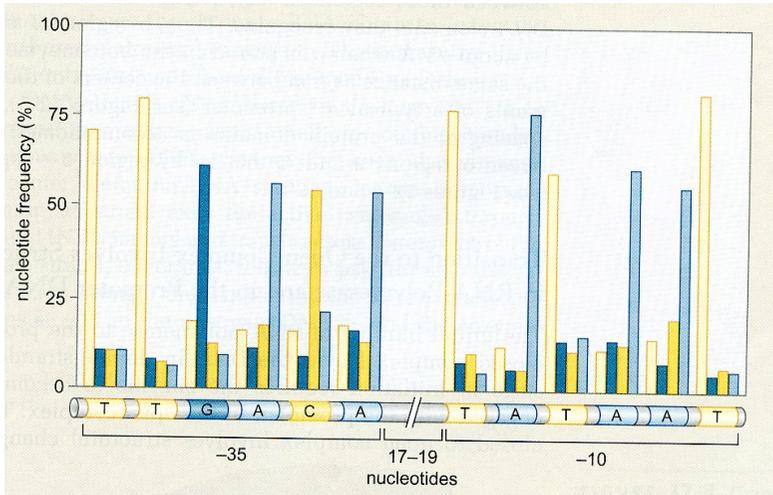
Prokaryotic		Eukaryotic		
Bacterial	Archaeal	RNAP I	RNAP II	RNAP III
Core	Core	(Pol I)	(Pol II)	(Pol III)
β'	A'/A''	RPA1	RPB1	RPC1
β	B	RPA2	RPB2	RPC2
α^I	D	RPC5	RPB3	RPC5
α^{II}	L	RPC9	RPB11	RPC9
ω	K	RPB6	RPB6	RPB6
	[+6 others]	[+9 others]	[+7 others]	[+11 others]

Note: The subunits in each column are listed in order of decreasing molecular weight.
 Source: Data adapted from Ebright R.H. 2000 *J. Mol. Biol.* **304**: 687–698, Fig. 1, p. 688. © 2000 Academic Press.

11

12

大腸菌プロモーターのコンセンサス配列



RNA polymeraseコア酵素: $\alpha_2, \beta, \beta', \omega$
 活性

プロモーターから転写開始できない

RNA polymeraseホロ酵素: core + σ
 認識

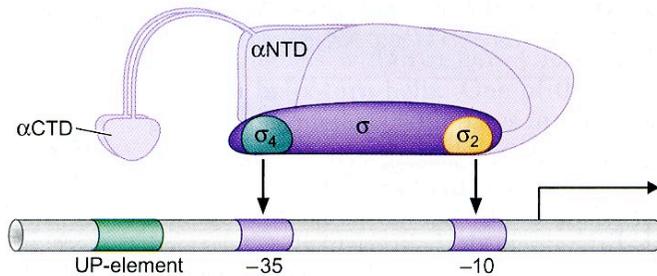
転写開始活性

ホロ酵素: コア (芯) となる酵素活性とそれを増強する他の成分とが結合した多タンパク質複合体の一般名
 完全な機能を発揮する会合状態

13

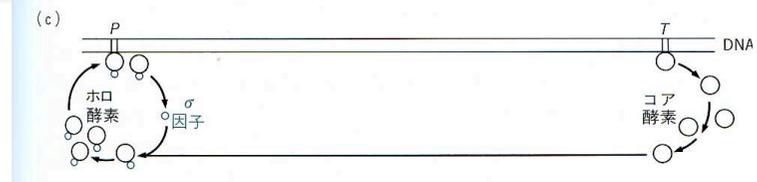
14

大腸菌RNAPのプロモーター認識



- σ^{70} : 主要 σ 因子
- σ^{32} : 熱ショック σ 因子
- σ^{54} : 窒素代謝系 σ 因子
- σ^{38} : 定常期 σ 因子

σ サイクル



σ カスケード

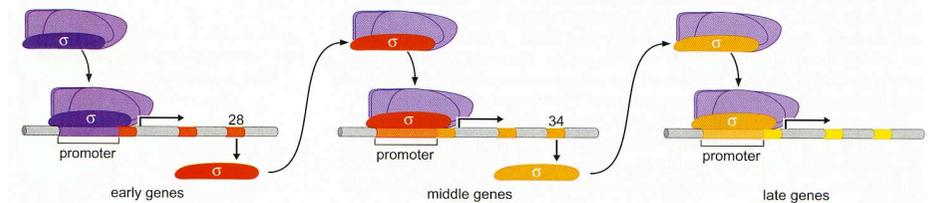


FIGURE 16-14 Alternative σ factors control the ordered expression of genes in a bacterial virus. The bacterial phage SPO1 uses three σ factors in succession to regulate expression of its genome. This ensures that viral genes are expressed in the order in which they are needed. (Source: Adapted from ...)

15

16

転写制御：Repressor

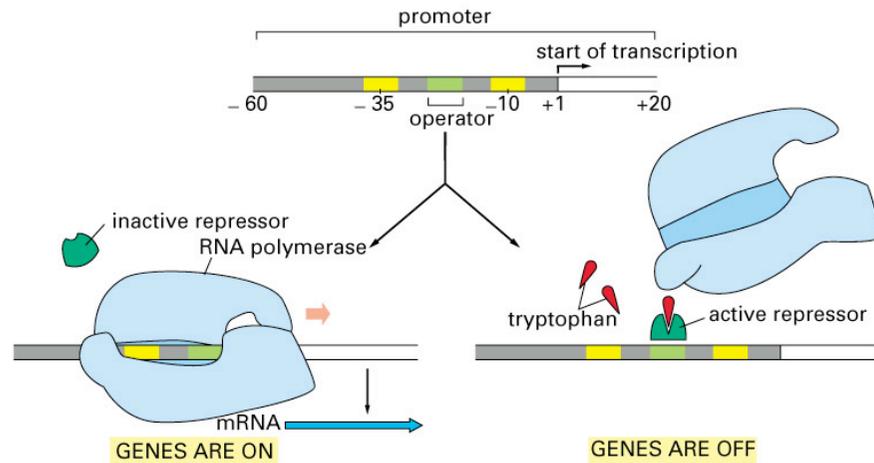
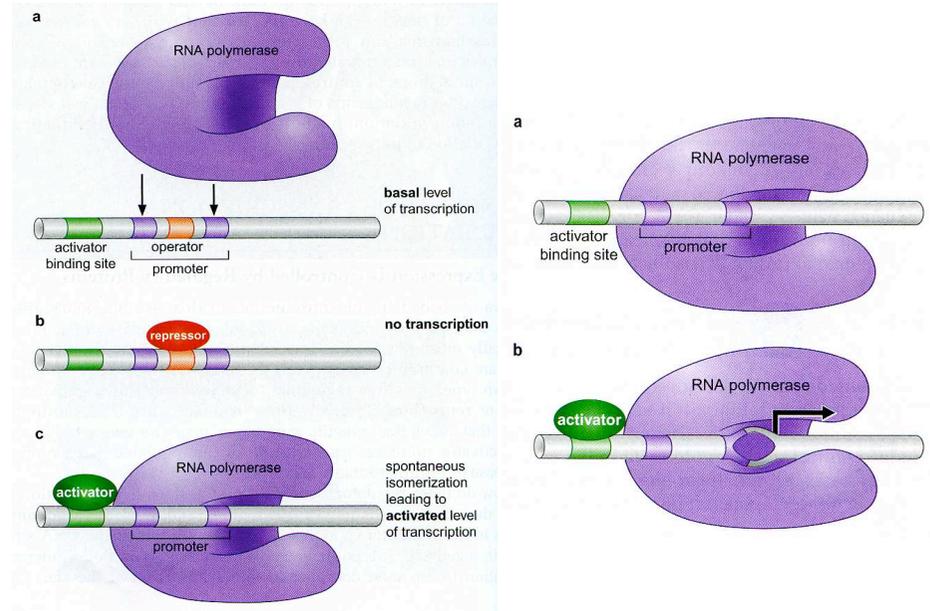


Figure 7-34. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

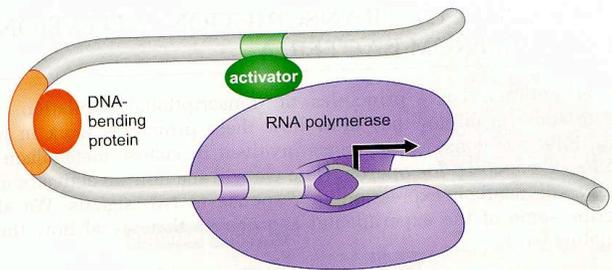
転写制御とRNAP recruitment model



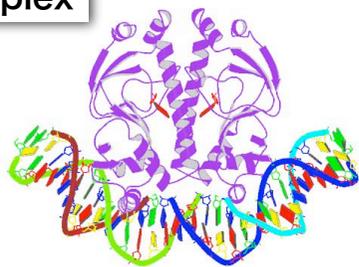
21

22

DNA-bending protein



CRP-DNA complex



原核生物の転写制御

cis 因子

- プロモーター：RNAP結合、転写開始点を規定
-10領域、-35領域 など
- オペレーター：リプレッサー結合部位
アクチベーター結合部位
- ターミネーター：転写終結シグナル
 ρ 因子依存、非依存型

trans 因子

- 転写装置：RNAポリメラーゼ
core (RNA伸長活性)、holo(プロモーター認識)
- 転写因子：配列特異的DNA結合タンパク質
正の因子 (アクチベーター)
RNAP相互作用、DNA構造変化 → RNAPリクルート
- 負の因子 (リプレッサー)
RNAP結合阻害、転写伸長阻害 → 転写ブロック

23

24