

前回のクイズ

DNA polymerase と RNA polymerase について

共通点:

相違点:

転写開始制御のしくみについて

cis 因子と trans 因子との相互作用

trans 因子のアロステリック変化

正と負の制御因子

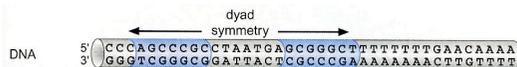
RNA polymerase に転写を開始させるか

RNA polymerase ホロ酵素: core +  $\sigma$

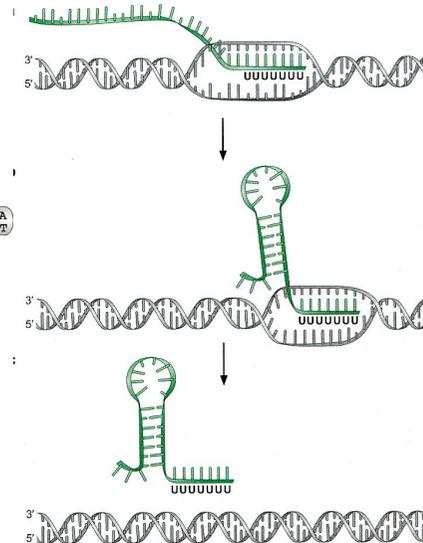
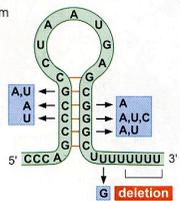
ホロ酵素: コア (芯) となる酵素活性とそれを増強する他の成分とが結合した多タンパク質複合体の一般名  
完全な機能を発揮する会合状態

転写終結機構 I

$\rho$  非依存性ターミネーター

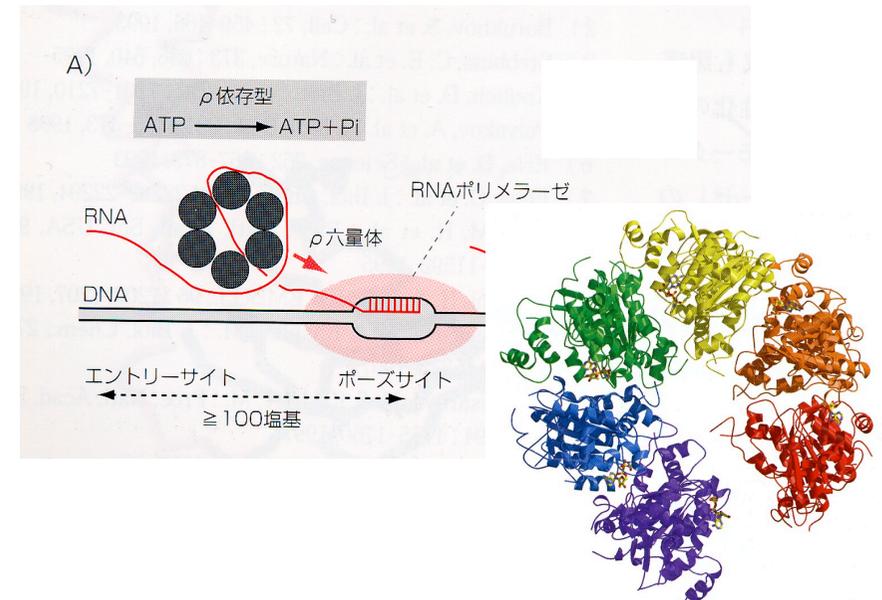


transcript folded to form termination hairpin



転写終結機構 II

$\rho$  依存性ターミネーター



# オペロン説

1965年:ノーベル生理学・医学賞

Jacob, Monod, Lwoff

(ジャコブ、モノー、ルボフ)

- 1) 調節因子とその標的領域の相互作用
- 2) 調節タンパク質の構造変化

## 遺伝子のスイッチ

# 転写制御：Repressor

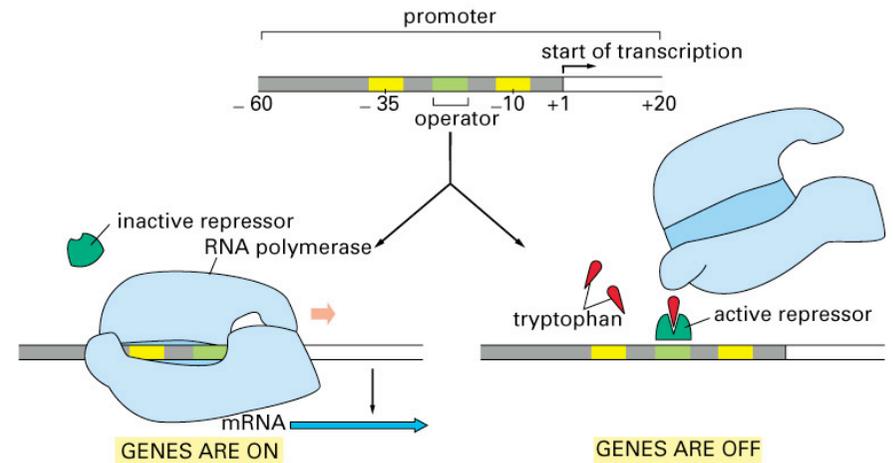
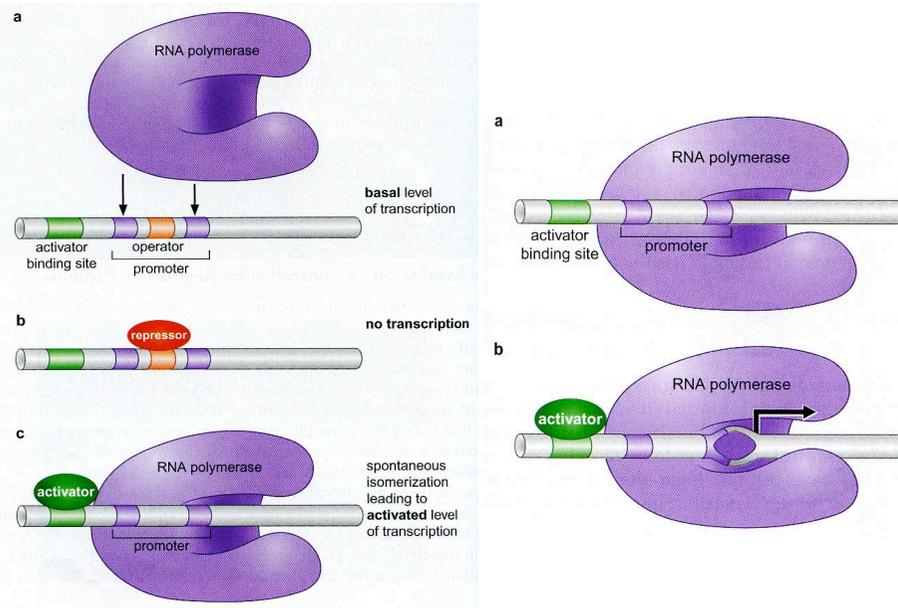


Figure 7-34. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

5

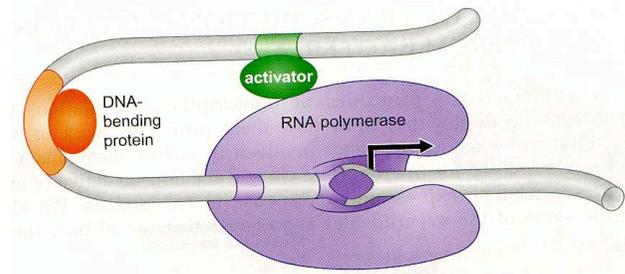
6

# 転写制御とRNAP recruitment model

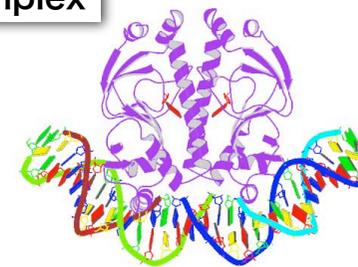


7

# DNA-bending protein



# CRP-DNA complex



8

## 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

## 真核生物の転写機構

- 3種類のRNA polymerases
- 基本転写因子 (GTFs): TFIIA, B, D, E, F, H etc.  
 転写開始複合体形成に必要
- エンハンサー・サイレンサー
- メディエーター複合体：  
 DNA結合転写因子と転写開始複合体、特にpol IIとの間をつなぐ
- コアクチベーター・コリプレッサー：  
 特異的DNA結合活性なし、クロマチン構造変化
- CTDリン酸化とRNAプロセッシング

9

10

## 3種類のRNA polymerases

TABLE 6-2 The Three RNA Polymerases in Eucaryotic Cells

TYPE OF POLYMERASE	GENES TRANSCRIBED
RNA polymerase I	5.8S, 18S, and 28S rRNA genes
RNA polymerase II	all protein-coding genes, plus snoRNA genes and some snRNA genes
RNA polymerase III	tRNA genes, 5S rRNA genes, some snRNA genes and genes for other small RNAs



非特異的転写活性が  
 3画分に分かれる  
 (1969 R.Roeder ウニ)

## RNA polymeraseの種類

TABLE 12-1 The Subunits of RNA Polymerases

Prokaryotic		Eukaryotic		
Bacterial	Archaeal	RNAP I	RNAP II	RNAP III
<b>Core</b>	<b>Core</b>	<b>(Pol I)</b>	<b>(Pol II)</b>	<b>(Pol III)</b>
$\beta'$	A'/A''	RPA1	RPB1	RPC1
$\beta$	B	RPA2	RPB2	RPC2
$\alpha'$	D	RPC5	RPB3	RPC5
$\alpha''$	L	RPC9	RPB11	RPC9
$\omega$	K	RPB6	RPB6	RPB6
	[+6 others]	[+9 others]	[+7 others]	[+11 others]

表1 ◆真核生物の3種類のRNAポリメラーゼのまとめ

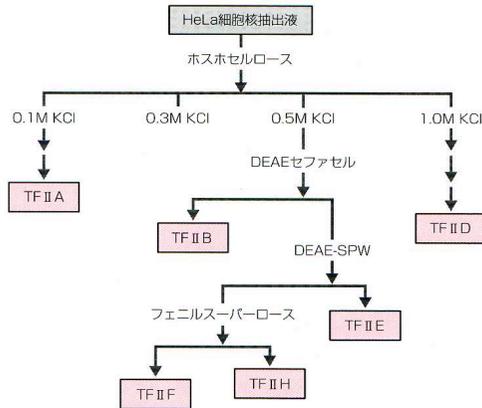
酵素	サブユニット数	局在	$\alpha$ -アマンチン感受性	転写特異性	性質
Pol I	14	核小体	非感受性	28S rRNA, 18S rRNA, 5.8S rRNA遺伝子	アクチノマイシジンDで阻害される
Pol II	12	核質	高感受性 50%阻害濃度 0.025mg/ml	すべてのタンパク質遺伝子と一部のsnRNA遺伝子	最大サブユニットC末端に、ほかのRNAポリメラーゼにはみられない7アミノ酸の繰り返し配列CTDを有する
Pol III	16	核質	低感受性 50%阻害濃度 20mg/ml	tRNA, 5S rRNA, U6RNA, 7SK RNA, アデノウイルスVA RNAの各遺伝子, Alu配列	

11

12

## Pol II系基本転写因子の分画

PolIIIだけではプロモーター特異的  
転写開始活性なし  
1980~ Roeder研  
in vitro転写系



General Transcription Factors  
TFIID: TBP(TATA binding protein)+TAFs  
TFIIA, TFIIB, TFIIE, TFIIIF, TFIIH

TABLE 12-2 The General Transcription Factors of RNA Polymerase II

GTFs	Number of Subunits
TBP	1
TFIIA	2
TFIIB	1
TFIIE	2
TFIIIF	3
TFIIH	9
TAFs	11

The numbers shown are for yeast but are similar for other eukaryotes, including humans.

13

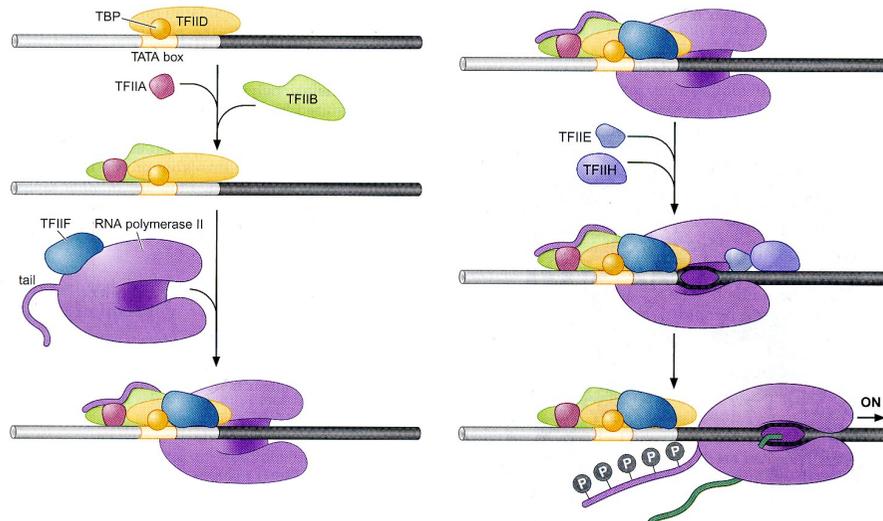
表 4-2 pol II 系基本転写因子

因子名	構造	機能	備考
TFIIA	$\alpha$ : 35kD } 同一遺伝子に $\beta$ : 19kD } 由来する $\gamma$ : 14kD	TFIIDのDNA結合を促進、TFIID結合の阻害因子に対するアンチリプレッサー機能	一部はTFIIDの成分になっている、TBP、TFIIBに結合するPC4の標的
TFIIB	33kD. 分子内に繰り返し配列をもち、部分的にTBPと似た構造をもつ	TFIIDとともに最小開始複合体の形成に参加、部分的にTBPに代わる機能を示す	TBPやpolIIに結合、すべてのpolII系遺伝子の転写に必須
TFIID	TBP (37kD)と7個の関連因子(TAF)を含む、TAFは30~250kDの範囲	プロモーター認識能とTATAボックス結合能を示す、TBPあるいはTAFが活性化因子のシグナルを受容する	TAFsの違いによる複数の分子種が存在する、TBPはDNA結合と基本転写の活性化に機能する
TFIIE	$\alpha$ : 57kD, $\beta$ : 34kD, $\alpha_2\beta_2$ の構造をもつ	TFIIHの機能を制御する、開始複合体形成の促進や、プロモータークリアランスにも関与する	すべての基本転写因子とpolIIに結合することができる、シグマホモロジーをもつ
TFIIF	30kD(RAP30)と74kD(RAP74)の各2個を含む四量体となっている	polIIに強い親和力をもつ、polIIの複合体へのエンターに必要	伸長中のpolIIにも結合しており、伸長反応の促進に寄与する
TFIIH	89, 80, 62, 44, 41, 40, 34, 34, 32kDの9個のサブユニットを含む、TFIIKは40, 34, 32kDサブユニットから成る	CTDキナーゼ、DNA依存ATPase、ATP依存DNAヘリカーゼ活性を含む、くつかはDNA修復酵素群のタンパク質と同一である	線状DNAでは転写開始やプロモータークリアランスに関与する

14

## Pol IIIによる転写開始反応

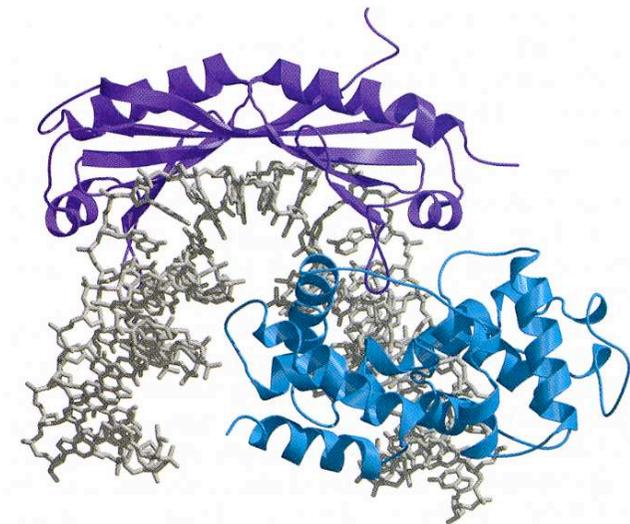
General Transcription Factors  
TFIID: TBP(TATA binding protein)+TAFs  
TFIIA, TFIIB, TFIIE, TFIIIF, TFIIH



15

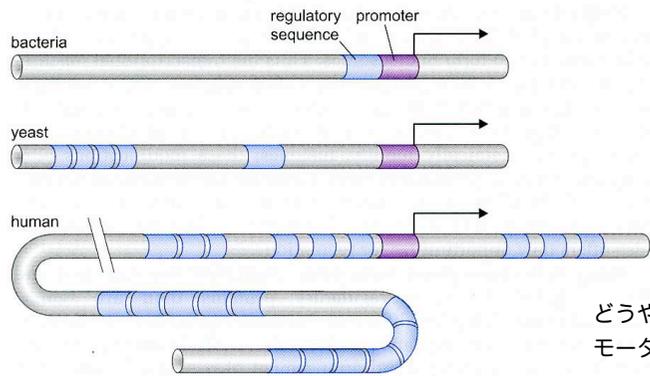
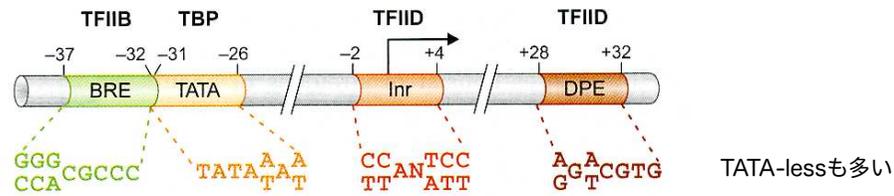
## TFIIB-TBP-プロモーター複合体

TFIIB (青)  
TBP (紫)  
プロモーターDNA (灰色)



16

# Pol II コアプロモーターと調節領域



どうやって特異的なプロモーターを選ぶのか？

# Pol II 調節因子群とメディエーター複合体

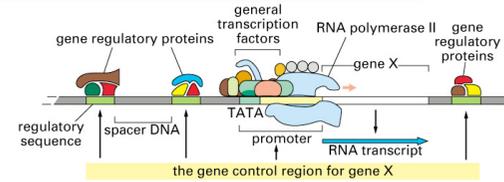
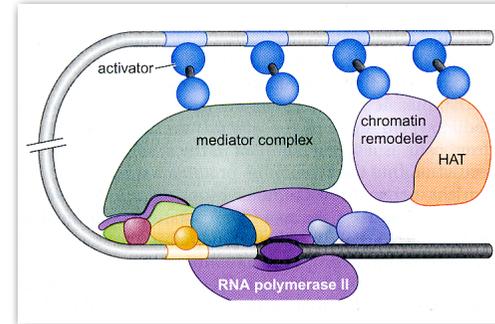
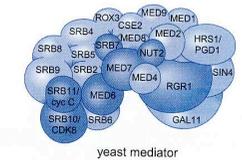


Figure 7-41. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

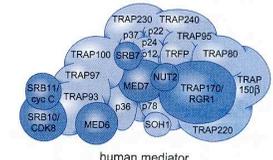


Mediator: 転写活性化因子による転写促進に必要な PolII + GTFs + Mediator = holo PolIII !?

エンハンサー/サイレンサー  
コアクチベーター/コリプレッサー  
メディエーター

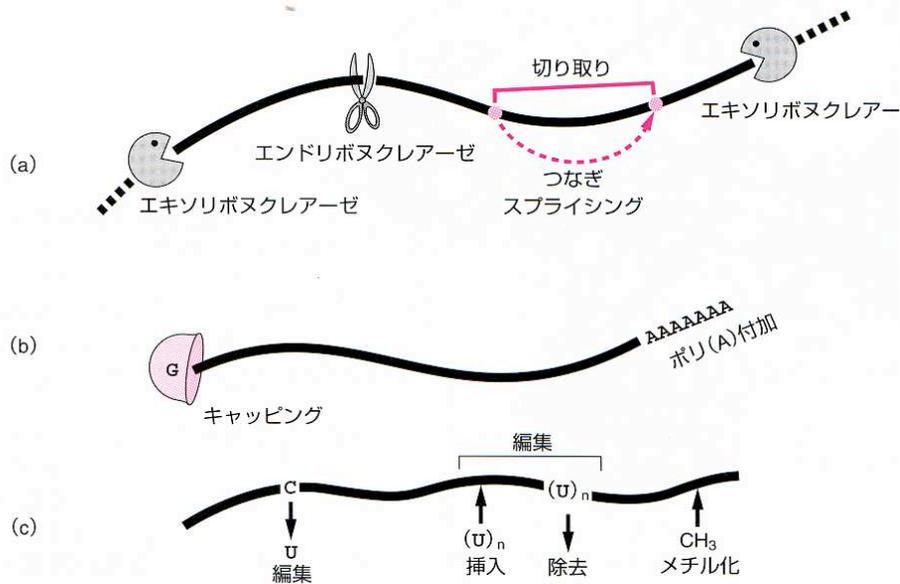


yeast mediator



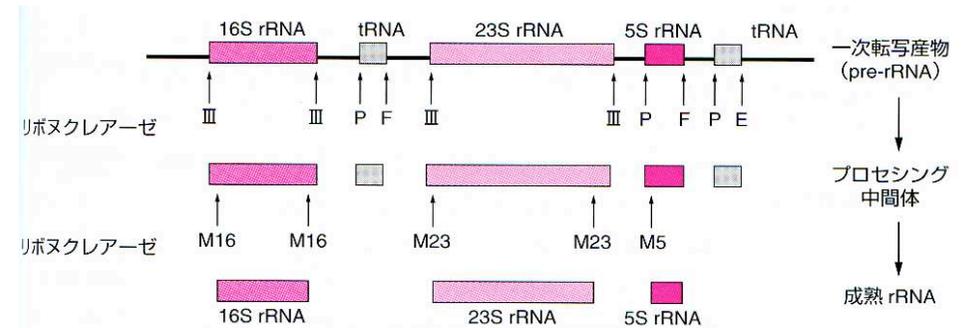
human mediator

2MDa (20個以上のサブユニット)  
巨大複合体

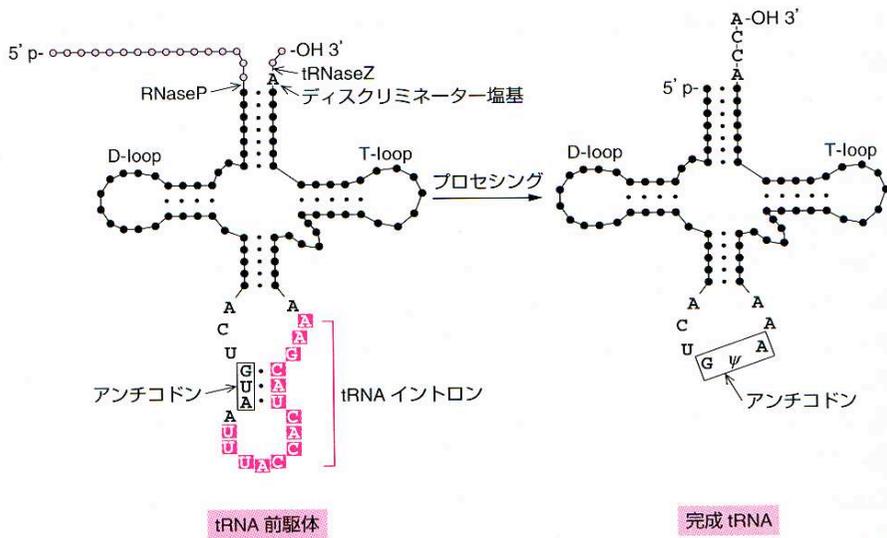


● 図 7.1 RNA プロセッシングにおける化学反応 ●

(a) 切断, (b) 付加, (c) 塩基変換と塩基修飾



● 図 7.2 原核細胞リボソーム RNA のプロセッシング ●



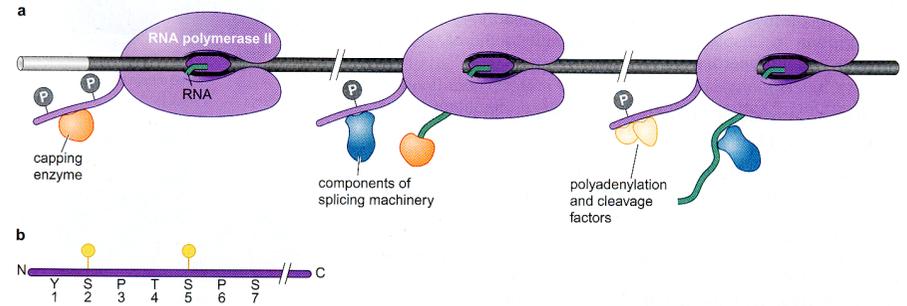
● 図 7.4 tRNA のプロセッシング ●

酵母チロシン pre-tRNA のプロセッシング。5' 末端および 3' 末端の切断とイントロンのスプライシングが行われる。スプライシングについては 7.4.3 項を参照。プロセッシングの過程で、アンチコドン部分の U は修飾反応により ψ (シュドウリジン) となる。

## CTDリン酸化とRNAプロセッシング

Poll II CTD (C-Terminal Domain)

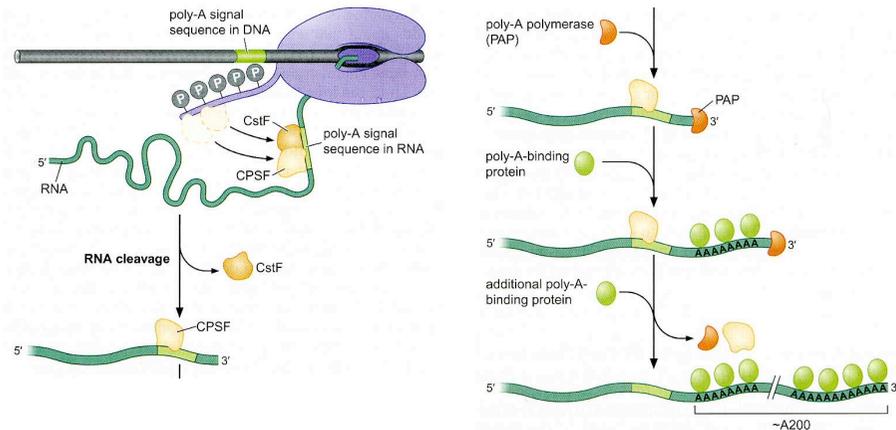
酵母 27個、ヒト 52個の繰返し配列



リン酸化

CTD kinase: TFIIH, P-TEF b

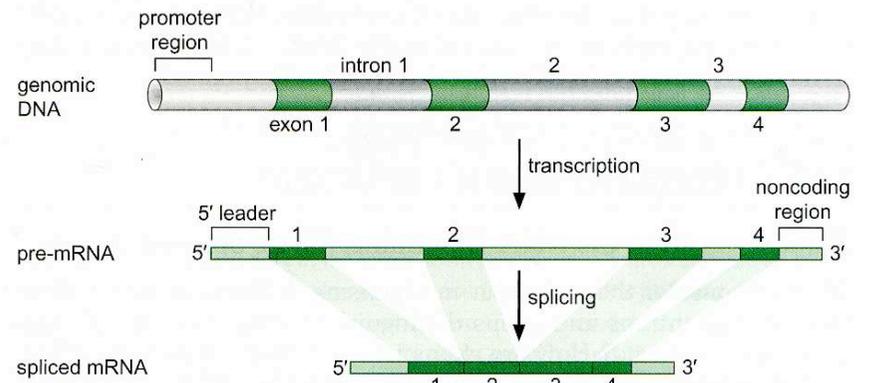
## 真核生物の転写終結とポリアダニル化



CstF: Cleavage Stimulation Factor

CPSF: Cleavage and Polyadenylation Specificity Factor

## RNAスプライシング



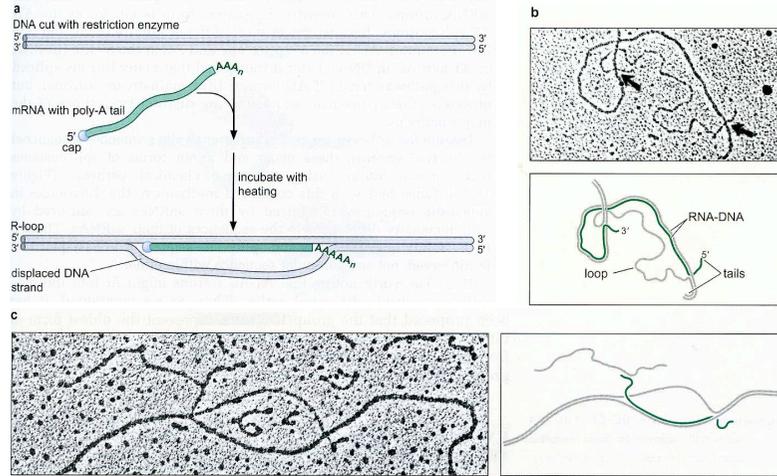
# 1993年ノーベル医学生理学賞

分断遺伝子の発見

(1977年 *adenovirus-2*)

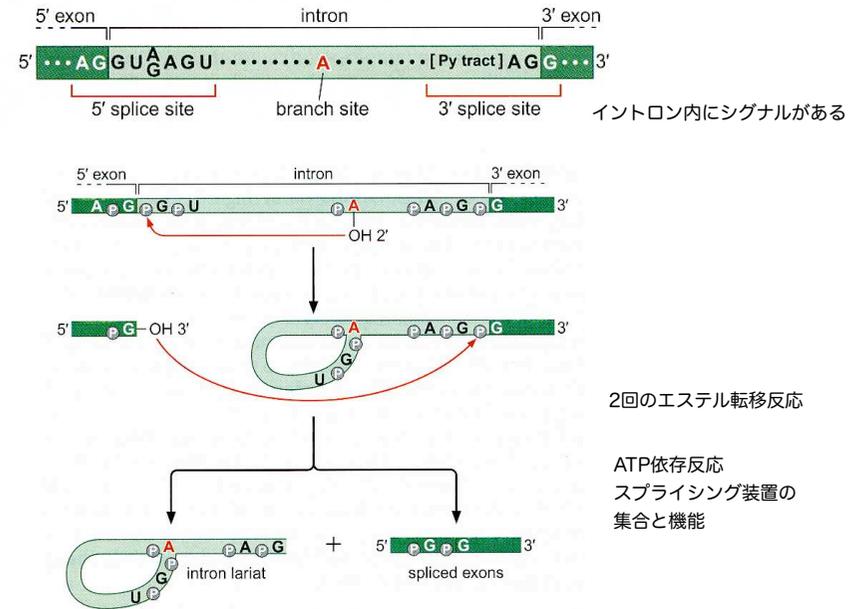
P.A.Sharp

R.J.Roberts



25

# スプライシング反応

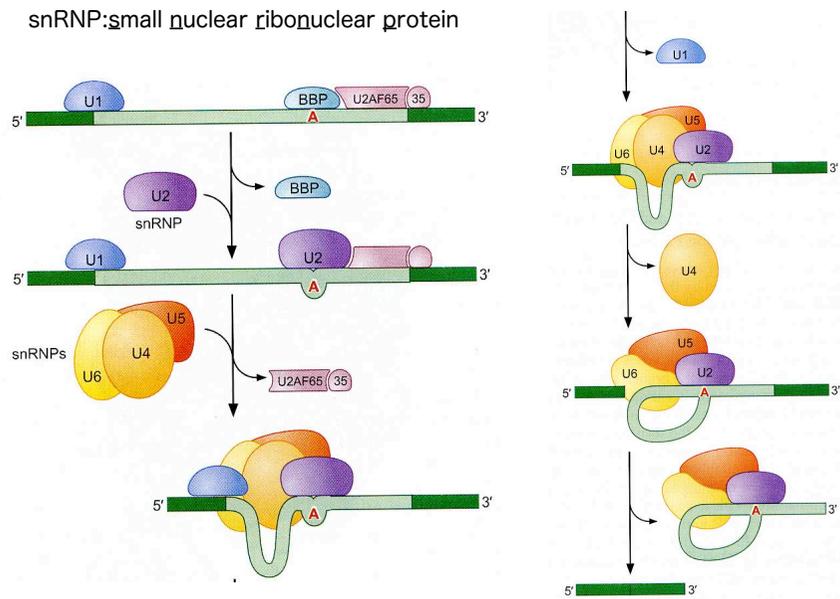


26

# スプライソソームの反応

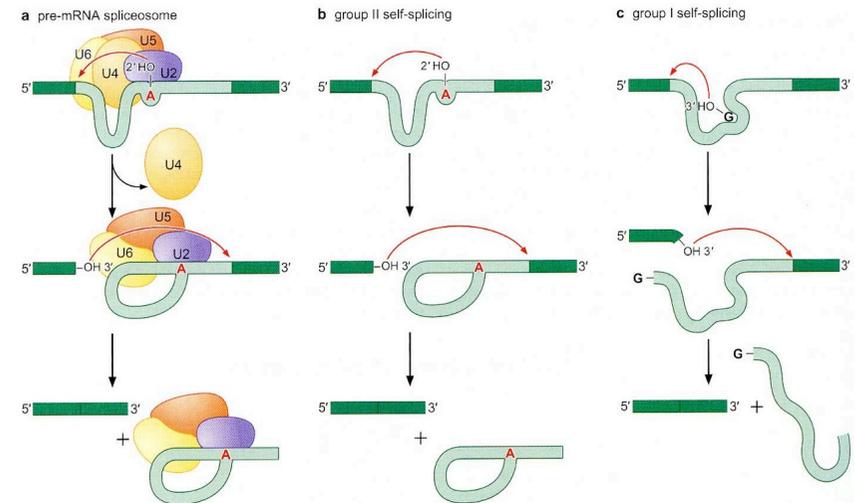
巨大スプライシング装置：150個のタンパク質と5個のRNA分子 リボソームほどの大きさ

snRNP: small nuclear ribonucleoprotein



27

# 自己スプライシング型イントロン



28

# 1989年ノーベル化学学賞

## RNAの触媒機能 (リボザイム) の発見

T.R.Cech

テトラヒメナ RNAスプライシング

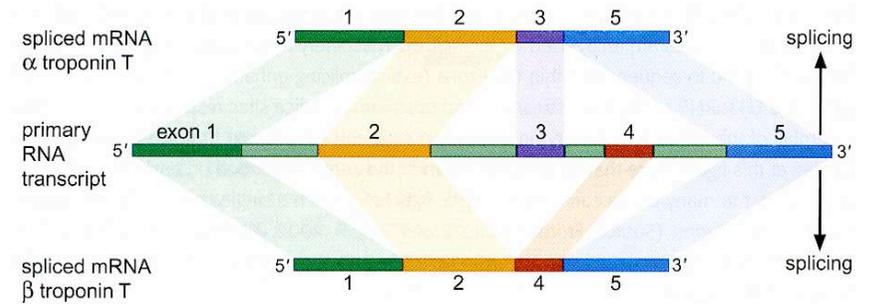
研究 in vitroで自己スプライシング活性

S.Altman

細菌RNaseP(tRNAプロセッシング)

研究 RNAが活性中心

## 選択的スプライシング

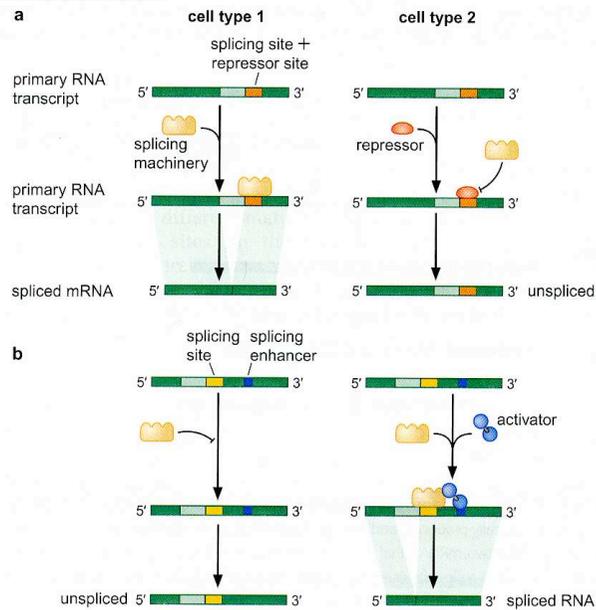


ショウジョウバエDSCAM遺伝子: 61.2 kbp DNA→24エクソン  
数千種類mRNA 理論上38,016種類のmRNA

29

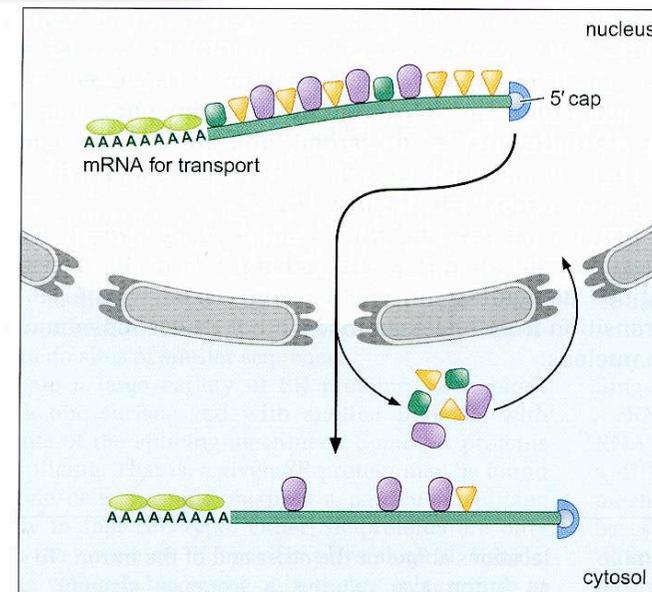
30

## 調整型の選択的スプライシング



31

## mRNAの核外輸送



32