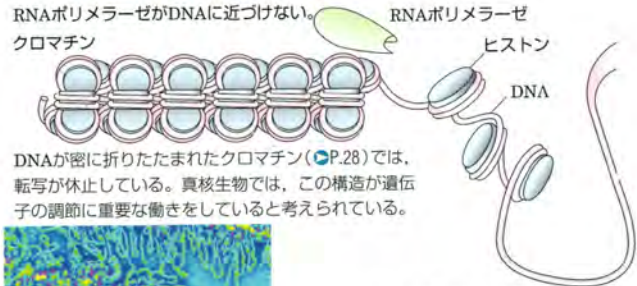
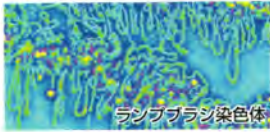


真核生物の遺伝子発現制御-染色体レベル

真核生物の遺伝子の調節



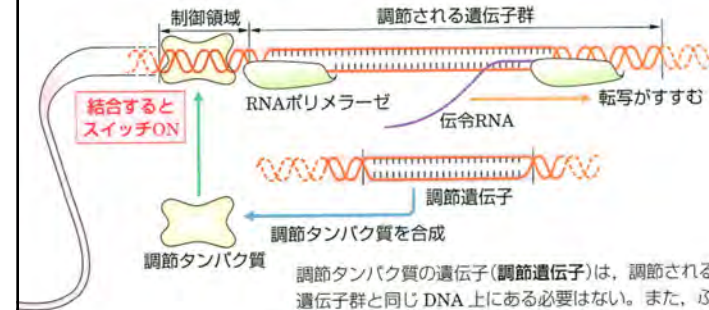
DNAが密に折りたたまれたクロマチン(●P.28)では、転写が休止している。真核生物では、この構造が遺伝子の調節に重要な働きをしていると考えられている。



動物の卵母細胞などで見られる巨大染色体。

クロマチンがほどけていると、RNAポリメラーゼや調節タンパク質が結合できるようになり、遺伝子が発現される(バフ、ランブブラシ構造)

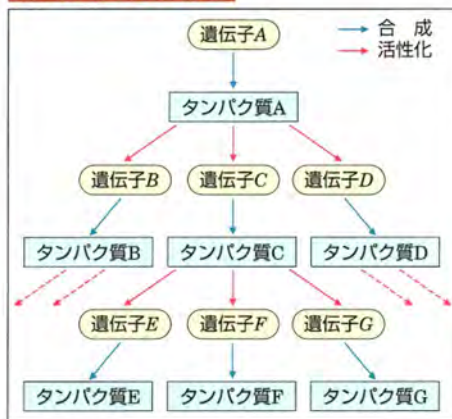
真核生物の遺伝子発現制御-転写レベル



調節タンパク質の遺伝子(調節遺伝子)は、調節される遺伝子群と同じDNA上にある必要はない。また、ふつうは1つの遺伝子群の調節に複数の調節タンパク質が関わり、制御領域も調節される遺伝子群から離れていることもあるなど、調節のしくみは複雑である。

遺伝子制御カスケード

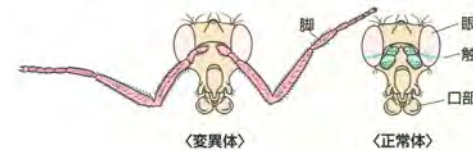
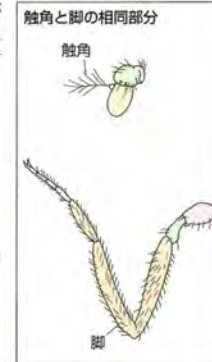
連鎖反応的な調節



器官が置き換わる突然変異

アンテナペディア突然変異体

ショウジョウバエ



器官が置き換わる突然変異

バイソラックス突然変異体

ショウジョウバエ



平均棍（退化したはね）を形成する後胸が中胸に変わり、はねが形成された変異体。

※バイは二重、ソラックスは胸部の意味。



〈変異体〉

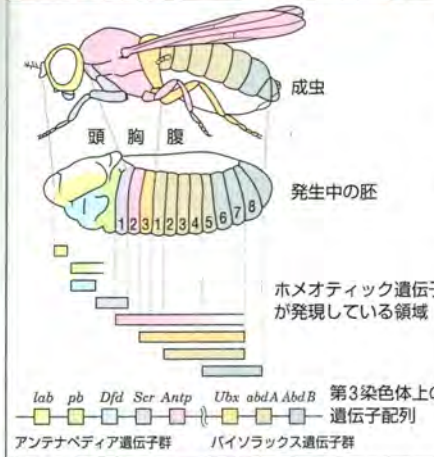


〈正常体〉

ホメオティック遺伝子

ホメオティック遺伝子の発現部位

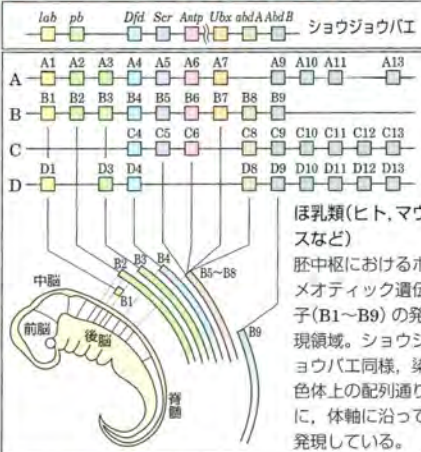
ショウジョウバエ



第3染色体上で、図の右にあるホメオティック遺伝子ほどからだの後ろ側の体節をつくる働きがある。たとえば、*Abd-B* が働かなくなると、腹部第5節～第8節が第4節と同様の形になり、*abd-A* と *Abd-B* が働かなくなると、腹部第2節以後の体節がすべて第1節と同様の形になってしまう。これらのホメオティック遺伝子の並び方は、体軸に沿って発現する順序とほぼ一致しているが、その理由は明らかではない。

ホメオティック遺伝子

ホメオティック遺伝子の比較



脊ついで動物にもショウジョウバエと同様のホメオティック遺伝子が存在する。ただし、脊ついで動物はホメオティック遺伝子を4組もつ。脊ついで動物が進化する過程で、ホメオティック遺伝子群に重複が生じた結果と考えられている。

ほ乳類(ヒト、マウスなど) 胚中脳におけるホメオティック遺伝子(B1~B9)の発現領域。ショウジョウバエ同様、染色体上の配列通りに、体軸に沿って発現している。



DNA 修復系		
種類	損傷	酵素
誤対合修復	複製の誤り	大腸菌では MutS, MutL, MutH ヒトでは MSH, MLH, PMS
光回復	ピリミジン二量体	DNA フォトリアーゼ
塩基除去修復	損傷を受けた塩基	グリコシラーゼ
ヌクレオチド除去修復	ピリミジン二量体 大型の塩基付加物	大腸菌では UvrA, UvrB, UvrC, UvrD ヒトでは XPC, XPA, XPD, ERCC1-XPF, XPG
二本鎖切断修復	二本鎖切断	大腸菌では RecA, RecBCD
損傷乗り越え DNA 合成	ピリミジン二量体, 脱プリン部位	大腸菌の UmuC など, Yファミリーの DNA ポリメラーゼ

The Nobel Prize in Chemistry 2015



Tomas Lindahl



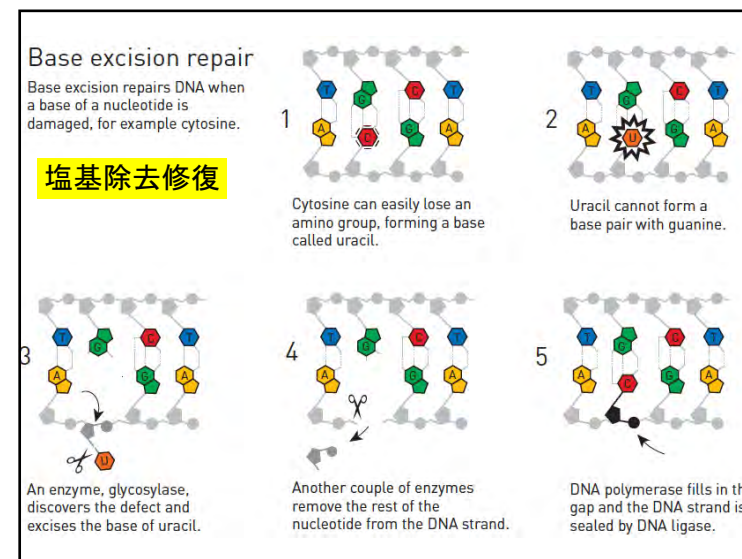
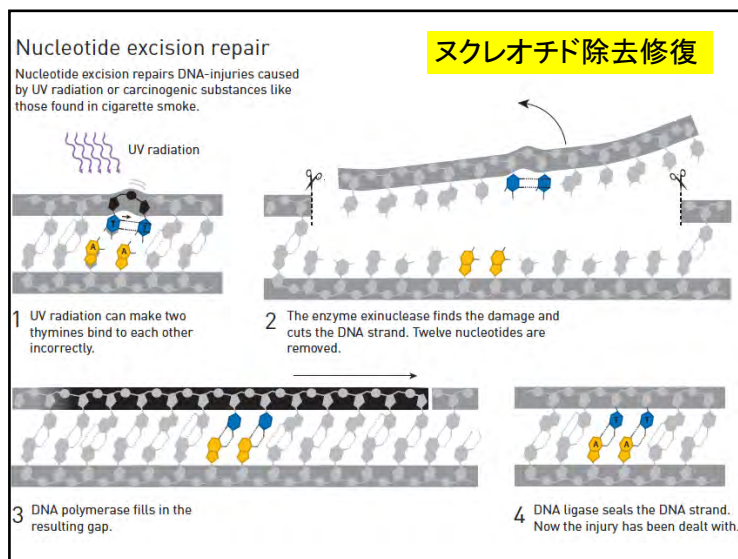
Paul Modrich

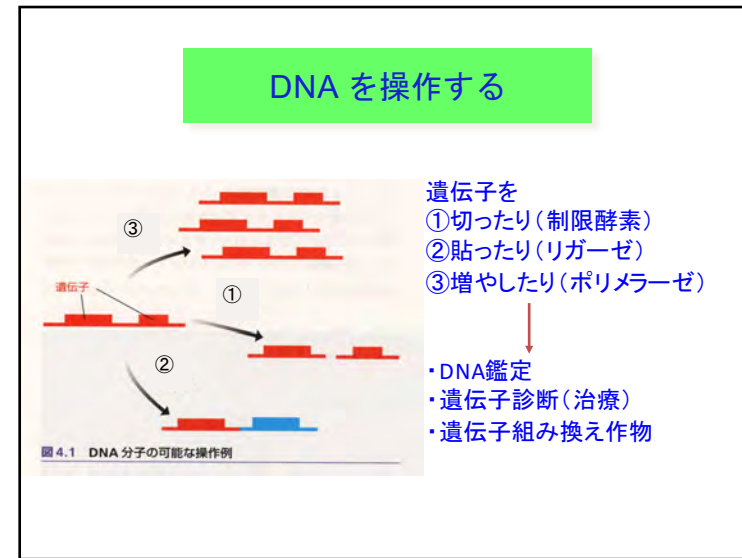
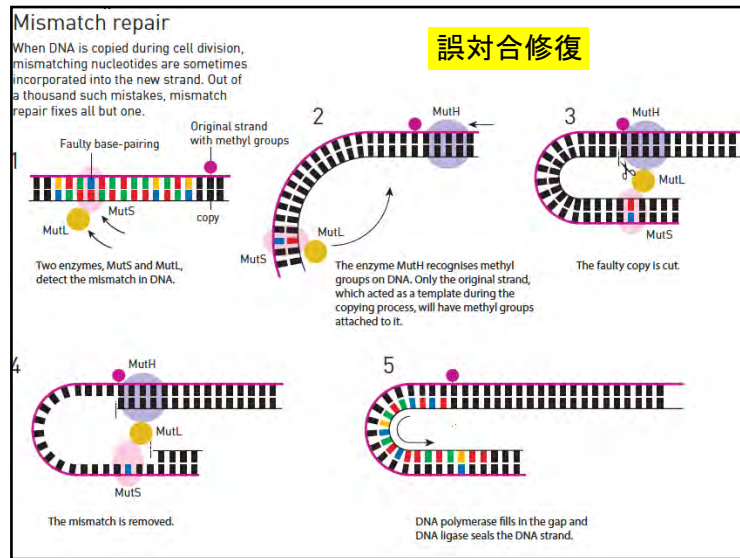


Aziz Sancar

「塩基除去修復」 「DNAミスマッチ修復」 「ヌクレオチド除去修復」

The Nobel Prize in Chemistry 2015 was awarded jointly to Tomas Lindahl, Paul Modrich and Aziz Sancar "for mechanistic studies of DNA repair".





遺伝子工学: 遺伝子操作の道具

ベクター DNAの運び屋

大腸菌のゲノムサイズ: 4.6Mbp
プラスミドpBR322のサイズ: 4.4Kbp

遺伝子操作と酵素 DNAを操作する酵素

制限酵素	切断のための「はさみ」	逆転写酵素
Eco RI	GAATTC CTTAAG	制限酵素には RNA を鋳型にして DNA を合成する酵素。通常の転写酵素 (RNA ポリメラーゼ) の逆の働きをする。RNA を遺伝子として持っているレトロウイルスの研究から発見され、遺伝子操作に利用されている。
Hind III	AAGCTT TTCAAG	
Pst I	CTGCAG GACGTC	
リガーゼ	GAATTC CTTAAG	リガーゼは DNA 鎖をつなぐ酵素である。

【制限酵素】 切断のための「はさみ」

制限酵素には RNA を鋳型にして DNA を合成する酵素。通常の転写酵素 (RNA ポリメラーゼ) の逆の働きをする。RNA を遺伝子として持っているレトロウイルスの研究から発見され、遺伝子操作に利用されている。

【逆転写酵素】

リガーゼは DNA 鎖をつなぐ酵素である。

【リガーゼ】 接着のための「のり」

リガーゼは DNA 鎖をつなぐ酵素である。

外来の DNA を細胞内に運ぶ役目をする DNA をベクター (運び屋) という。大腸菌に対してはプラスミド (菌体内にある小さな環状 DNA で自己増殖する。pBR322) などが使われる。

制限酵素は、1968年に、スイスの**ウェルナー・アーバー** (W. Arber) やアメリカの**ハミルトン・スミス** (H.O. Smith) によって発見された。制限酵素の名前の由来としては、大腸菌のある種の株でファージの増殖が制限されるという現象が確認されていたことによるもので、そのような菌からファージのような外来 DNA を切断する制限酵素が発見された。(ホスト側のゲノムは、メチル化などの修飾によって保護されているため切断されない)

(Werner Arber)

(Hamilton O. Smith)

ノーベル生理学・医学賞 (1978年): 制限酵素の発見と分子遺伝学への応用

プラスミド

レプリコン: 複製起点をもち、それによって自己複製できる DNA 分子

プラスミド: 染色体とは別に自己複製される遺伝因子 (核外遺伝子)

菌を壊してプラスミドだけを取り出すことができる

プラスミドはある種の原核生物細胞の中に見いだされる小型の環状 DNA である

形質転換

プラスミドをもたない大腸菌細胞 (薬剤感受性)

精製したプラスミド DNA (薬剤耐性遺伝子を含む)

1) カルシウム処理法
2) 電気穿孔法
3) パーティクルガン法

プラスミドを獲得した大腸菌細胞 (薬剤耐性) = 形質転換体

遺伝子クローニングの概要

BamHI 部位

動物 DNA

動物遺伝子

BamHI

大腸菌プラスミド

大腸菌細胞

プラスミドに導入された動物遺伝子

形質転換 (transformation)

大腸菌内複製

大腸菌コロニー

大腸菌内部の組み換え体プラスミド

多数の組み換え体プラスミドのコピー

光る大腸菌を作ることにもできる!

大腸菌のプラスミド DNA

蛍光タンパク質 (GFP) の遺伝子

これを大腸菌に導入すると...

オワンクラゲ

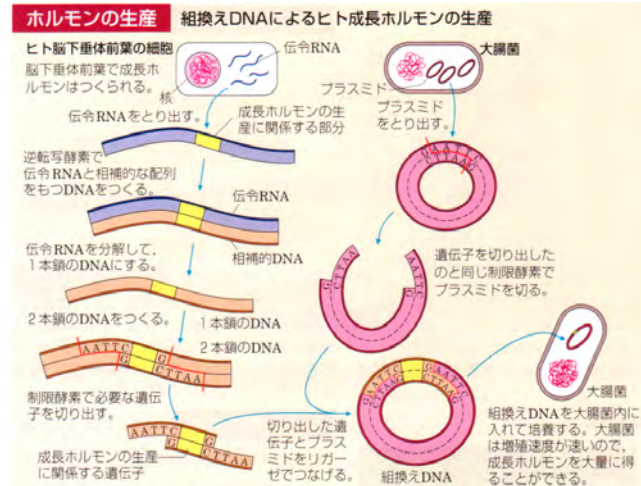
切り口を貼り合わせる

光るタンパク質遺伝子を持ったプラスミド DNA

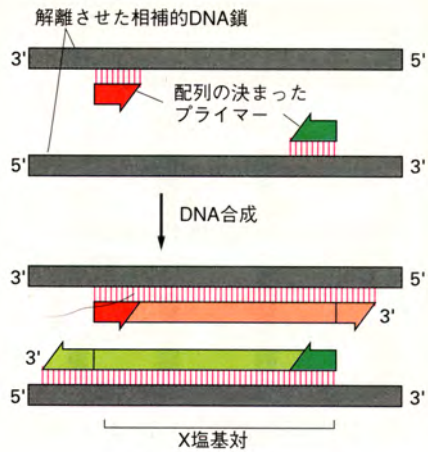
光るヌードマウスも・・・



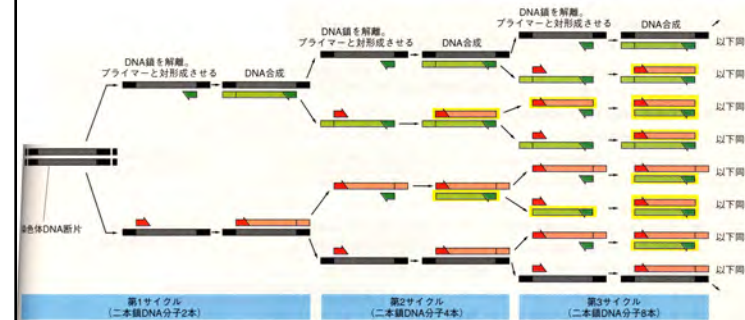
遺伝子工学:遺伝子操作



PCR (ポリメラーゼ連鎖反応)



PCR 法による DNA 増幅

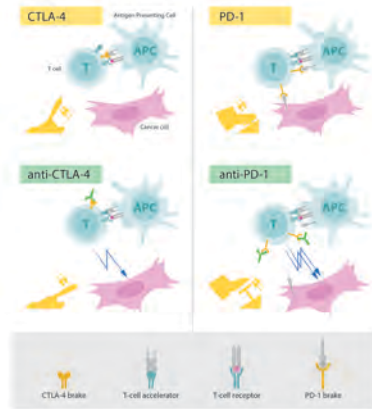


二つのプライマーで挟まれた領域が増幅される。

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2018



Tasuku Honjo



Prize motivation: "for their discovery of cancer therapy by inhibition of negative immune regulation."