

DNA の構造

DNA の立体構造

DNA は塩基対とリン酸、デオキシリボースからなるポリヌクレオチド 2 本が逆平行に向き合った二重らせん構造を取っている。塩基対はプリン A、G とピリミジン T、C が A-T、G-C の組み合わせで二重らせん内部で水素結合を介して結合している。塩基対は平行に水素結合を形成せず、ヘリコプターのプロペラの様にねじれた位置にある。約 10.4bp で 1 回転し、その長さは約 36 Å である。

それぞれの鎖のピリミジン塩基とプリン塩基は二重らせんの内部に積み重なり、疎水的でほぼ平面状の構造がきわめて近接し、かつ、らせんの長軸に対して垂直に配向する。対合する二本鎖の主鎖を結ぶ直線はらせんの中心軸からずれるため、二本鎖の表面に主溝と副溝が形成される。鎖全体はまっすぐでなく、水素結合や結合タンパク質間の相互作用によりペンディングされて曲がっている。

DNA の立体構造を安定化させる要因としては疎水的相互作用・双極子相互作用・水素結合・静電的相互作用がある。塩基のプリンやピリミジンは疎水性であり、通常、DNA が存在する親水環境下においては水分子から隠れるように立体構造の内部に埋もれる。この作用は受動的な力である。

らせん構造は外部環境により変化する。通常は B 型と呼ばれる右巻きの主溝、副溝が存在する構造であるが、脱水状態では主溝、副溝がなくなって溝が等間隔になった A 型に変化する。また、特殊な条件下および特殊な塩基配列では Z 型と呼ばれる左巻きの構造になることも知られている。

DNA の特異的配列の認識

DNA の塩基対の縁にはタンパク質の側鎖と水素結合を形成できる N 原子や O 原子が主溝に 4 つ、副溝に 3 つそれぞれ存在する。タンパク質はこれを基に塩基配列を認識し、結合を行う。Helix-turn-helix ・ Zinc fingers ・ Leucine zippers ・ Helix-loop-helix が DNA 結合構造モチーフとして知られている。

抗癌剤

抗癌剤の作用形式

現在使用されている DNA に作用する抗癌剤の作用形式は四つに分類できる。副溝に結合する抗癌剤にはジスタマイシンやネトロプシンがある。これらは同一平面上に乗る構造で NH 基を多く持つ。そのため通常時は H₂O 分子が水素結合している A-T 対に水素結合して副溝内に入り込んで転写を阻害することができる。

インタカレータとして塩基対の層状構造の間に入り込む抗癌

剤にはエチジウムブロマイドやダウノマイシンがある。これらは副溝付近の塩基対の間に入り込む、あるいはその塩基対と入れ替わることで塩基対にひずみ、あるいは変異を加えることで転写を阻害する。

共有結合を形成して DNA 阻害を行うものにシスプラチンやカルボプラチンがある。これらは A、G と共有結合、水素結合を形成する。

DNA を切断する抗癌剤にはブレオマイシンやエスペラマイシンがある。ブレオマイシンはリボース環の開裂、エスペラマイシンはラジカル生成によって DNA を切断する。

転写調節因子

ロイシンジッパー

転写因子のロイシンジッパー部分は α -Helix から成り、全体として Coiled-Coil 構造を取っている。DNA 結合領域は主溝に入り込む形で DNA に結合する。

この構造は特殊なアミノ酸配列によって形成される。DNA 結合領域には塩基性アミノ酸 Arg、Lys を中心、ロイシンジッパー部には Leu を中心した共通構造が見られる。DNA 結合領域は水溶性の塩基性アミノ酸が分布することで DNA 塩基対との親和性を効率よく高めている。ロイシンジッパー部には 7 塩基ごとに疎水性の Leu が、その 4 塩基下流には Val、Asn、Met などの疎水性アミノ酸が規則的に配列している。この配列でヘリックスを巻くと疎水面と親水面が生じる。生体環境下では疎水面は疎水性相互作用により疎水面を水から隠すような形で 2 量体化して安定化する。水中では水素結合による相互作用点の安定化が弱いが、2 量体形成によりそれを補助することができる。

ジンクフィンガー

ジンクフィンガー構造には Zn と結合するアミノ酸残基の種類によって C₂H₂ 型、C₄C₄ 型、C₆ 型が存在する。その中で C₂H₂ 型最もメジャーでよく研究が進んでいる。この構造は His 残基のイミダゾールと Cys 残基のチオールが Zn²⁺ と配位することで安定化を得ている。DNA の認識は N 末端側の逆平行シートと C 末端側の α -Helix によって行われ、複数のフィンガーが直列につながって DNA 配列を認識する。その割合は 1 つのフィンガーにつき、3 塩基対である。配列認識の特徴としては (塩基対ではなく?) 非対照配列の認識、主に G、C を認識することである。

α -Helix

-Helix はタンパク質の二次構造の代表的な形で、アミノ酸がらせん状巻いた形をしている。ヘリックスは疎水面と親水面に分かれる結果、両親媒性になる。生体環境下での構造の形成には疎水性相互作用が大きく関与し、疎水性部位が水から離れようとしてヘリックス構造を形成する。その構造を4残基ごとにできる水素結合がさらに安定化する。各アミノ酸の側鎖は立体傷害が少なくなるよう、側鎖が外側に配置される。-Helixの特徴は両親媒性であること以外に角度によってそれぞれの構造がはまり込むパッキングが起こるといふ点である。他にはペプチド結合中の双極子モーメントが集合して全体としてC-N方向に双極子モーメントが生じ、電位差に反応するという点である。

細胞内タンパク質輸送

シグナル仮説

リボソーム上で合成されたタンパク質は機能する部位まで正確に輸送される必要がある。目的部位までの正確な輸送はシグナル配列という短いアミノ酸配列によって規定される。シグナル配列は核移行シグナルと膜貫通シグナル以外では輸送後切断される。シグナル配列は小胞体ではSRPに、核ではインポーターに、ミトコンドリアではシャペロンによって認識されて目的部位に誘導される。

核への輸送

タンパク質の核への移行は核膜孔を介して行われる。分子量6万以下の物質は自由拡散により核膜孔を通過できるが、6万以上の分子に対しては能動輸送がなされる。核膜孔は核膜孔複合体から成り、カゴ状に微細線維を伸ばしてタンパク質を核内へ誘導する。

タンパク質中の核移行シグナルに核内取り込み受容体が結合する。この複合体が核膜孔の微細線維と相互作用すると孔が拡大し、複合体はGTP水解エネルギーを利用して核内へ移行する。移行後、受容体は解離して細胞質内へ戻るが、シグナル配列は保存される。

核局在化シグナルはLysとArgに特徴付けられ、その数によってHighly basic NLS、Typical NLS、Non-typical NLSに分けられる。

ミトコンドリアへの輸送

ミトコンドリアは外膜、内膜、膜間スペース、マトリックスの四つの微細構造からなる。タンパク質輸送は異なったシグナル配列でこの微細構造を区別してそれぞれ行われる。マトリックスへ

の輸送について説明する。

タンパク質は分子シャペロンに結合した状態でN末端のシグナル配列を介して外膜の受容体に結合し、Tom-Timチャネル複合体へと膜内を移動する。電気化学ポテンシャルとミトコンドリアHsp70によってシグナル配列を先頭に膜を通過する。通過後、シグナル配列はプロテアーゼによる切断を受け、タンパク質はフォールディングを受ける。

小胞による輸送

リボソーム上で合成されているタンパク質鎖のシグナル配列にSRPが結合するとSRPはリボソームに結合して合成過程を停止させる。リボソーム-SRP複合体は小胞体上のSRP受容体と結合し、同時にペプチド輸送複合体トランスロコンと結合する。内腔への輸送に共役してタンパク質合成が再開される。内腔ではシグナル配列がペプチターゼにより切断される。その後ペプチド鎖は糖鎖の付加を受け、シャペロンによるフォールディング、カルネキシン・カルレチキュリンによるファールディングを受ける。

ウイルスの侵入

ウイルスの外被離脱戦略

ウイルスの細胞内侵入戦略はウイルスによって特徴的で大まかに四つに分類することができる。まず、一部にエンベロープを持つHIVでは宿主細胞の細胞膜と直接融合してキャプシドを細胞質内に放出する。

エンベロープを全体に持つインフルエンザウイルスでは細胞表面受容体に結合してエンドサイトーシスを介して細胞内に侵入する。細胞質内でエンドソームが酸性化するとエンベロープがエンドソーム膜と結合して細胞質内にヌクレオキャプシドを放出する。

エンベロープを持たないポリオウイルスでは宿主細胞の表面受容体に結合して宿主細胞の細胞膜に小孔を作って自身のゲノムRNAを注入するという方法を採用する。

アデノウイルスはポリオウイルス同様、エンベロープを持たないが、より巧妙な手法で細胞内に侵入する。受容体を介したエンドサイトーシスによってできたエンドソームの膜を破壊し、キャプシドを放出する。キャプシドは核膜孔に結合して自身のゲノムDNAを核内に放出する。

pH感受性リボソーム

pH感受性リボソームを形成する膜内には血清成分が入り込んでいる。pH低下により血清成分の親水基がプロトン化されると血清成分は膜構成脂質中から離れてHexagonal phaseになり、

二重膜構造は崩壊する。

飲食作用経路

LDL は細胞表面にある受容体に結合してクラスリン被覆小胞によって取り込まれる。小胞は被覆を失い、エンドソームと融合する。エンドソーム内の酸性環境下で LDL はリソソームに送られて分解され、遊離のコレステロールを放出する。LDL 受容体は輸送小胞により細胞膜に戻されて再利用される。

飲食作用により取り込まれた受容体は回収・再利用、分解、トランスサイトosisのいずれかの経路を辿る。

インフルエンザ

インフルエンザウイルスは感染すると発熱、頭痛、関節痛、筋肉痛などの症状を発現し、重症化することもある感染ウイルスである。その表面はヘマグルチニン(HA)、ノイロアミダーゼ(NA)、M2 タンパク質で覆われており、感染経路では HA と NA が大きな役割を担っている。

ウイルス表面の HA が細胞表面のシアル酸に結合してウイルスは気道内表面の細胞に侵入する。この結合によってウイルスは細胞内に取り込まれ、自身の RNA と内部タンパク質を細胞核に向けて投射する。ある種のタンパク質が RNA の複製、mRNA の生産を助ける。細胞内のリボソームにより mRNA は翻訳され、ウイルスタンパク質が生成される。

次にウイルスの遺伝子とタンパク質が組み合わさって新たなウイルスとなりシアル酸に覆われてエキソサイトosisにより細胞外へ出て行く。このときシアル酸は NA によってウイルス表面から直ちに切り離されるので新しい粒子として別の細胞への侵入能を獲得する。

HA は 3 つのサブユニットからなり、先端にシアル酸受容体結合部位が存在する。受容体結合部位は ストランドで構成されている。HA 自体は α -Helix が多く、pH によってコンホメーション変化する。

pH7.0 では HA1 の一部が球状構造を取り、とげの先端に位置する。この部分が宿主細胞膜表面のシアル酸と結合してウイルスは内部に入り込む。このとき融合ペプチドは分子の内側に隠れている。pH5.0 では融合ペプチドと HA2 部分との結合は弱まり、大きな構造変化が生じる。HA1 球状部が解離し、短いヘリックスが結合して 88aa からなる長いヘリックスになり、エンベロープから外に向かって飛び出す。

ノイロアミダーゼ(NA)は糖タンパク質や糖脂質の糖鎖の非還元末端のシアル酸残基を遊離させる酵素。

パンデミックウイルスの誕生

新たなウイルスの誕生には遺伝子変異と自然選択という通常の進化の道筋を辿る場合と 2 種類のウイルスが同一細胞に重感染し、株から放出された RNA が細胞内で再集合して新たな RNA 配列が誕生する場合がある。

シート

シート構造

シート構造はタンパク質の二次構造のうち β -Helix に次ぐ第二の構造である。その構造は会合する 2 つの配列の向きによって逆平行型と平行型に分けることができる。逆平行型では水素結合はペプチド鎖軸に対して垂直に形成されるが、平行型では平行には形成されない。

プリオン病

プリオン病は感染から発症まで 30 年以上かかり、すべての病気で進行性の認知障害と運動機能低下を呈するという特徴を持つ。家族性の疾患で遺伝子変異が見つかったので、現在では変異を解析するだけで判別が可能になっている。代表的なものとしてクールー病やクロイツフェルト・ヤコブ病が知られている。

クールー病はニューギニア台地にのみ見られた疾患であり、3 ヶ月から 1 年で発症する。原因は現地の文化としてあった食人であると考えられた。1958 年以後報告されていない。

クロイツフェルト・ヤコブ病は原因の多くが未だ解明されていないが、全体の 10~15% のものは遺伝性であると考えられている。感染は稀だが、医原的に感染した例がある。発症には 1 ヶ月から 10 年間かかるが、通常は 1 年程度である。

異常プリオンの伝播

プリオン病は正常プリオンタンパク質 PrPc 中の β -Helix が β -Sheet に変異して β -Sheet 同士が相互作用して凝集体を形成した結果、不溶性の異常タンパク質 PrPsc になることが原因である。

異常プリオンの伝播は接触により起こる。PrPsc に接触した PrPc は PrPsc に変換される。この新生 PrPsc は他の PrPc に接触する。そのため、ひとたび異常プリオンが生成されると、ドミ

ノ式に起こる。

アルツハイマー病と シート

アルツハイマー病患者では大脳皮質に老人斑が見られ、そこにアミロイド が蓄積することが知られている。この A は構造中の α -Helix が β -Sheet に変異して相互作用によって繊維状に凝集し、不溶化したものである。

異常なプロセシングが起こって A が異常に産生されていることも分かっている。アミロイド前駆体は正常時、 α -セクレターゼにより A 中盤で切断されるが、異常時は β -、 γ -セクレターゼにより A だけが切り出される。

Triplet Repeat

タンパク質遺伝子中に異常な 3 塩基連続配列が生じる。これにより本来の機能を失ったり、他のタンパク質と凝集を起こしたりする。Triplet Repeat 病にはハンチントン病や筋緊張性ジストロフィーがある。

抗体

抗体のヒト型化

遺伝子医薬