遺伝子と遺伝子工学

佐賀大学農学部
和田康彦

サブタイトルとスライド番号の対照表

- ３－１０　　遺伝と細胞
- １１－１６　遺伝子、転写、翻訳
- １７－２３　遺伝子工学の基本技術１
- ２４－２８　遺伝子工学の基本技術２

この講義の目的

- 遺伝学の基本事項を復習する
- 遺伝子とDNAについての基本を理解する
- 転写、翻訳の機構について理解する
- 制限酵素処理などの遺伝子工学の基本を把握する
- クローニング、PCR,ハイブリダイゼーションなどの遺伝子工学手法を概観する

メンデルの優性の法則

- 草丈の違うエンドウマメを交配した
- 雑種第１代はすべて草丈の高いものだった
- メンデルの仮説
  - 遺伝子Aが1つでもあると草丈が高くなる
  - 遺伝子Aを優性遺伝子、遺伝子aを劣勢遺伝子と呼ぶ

	草丈高		草丈低
親世代	AA	x	aa
		↓	
雑種第１代		Aa	草丈高

メンデルの分離の法則

- 雑種第１世代どうしを交配すると草丈の高いものが787個体、草丈の低いものが277個体であった。
- これはほぼ3：1の割合である。
- すなわち遺伝子型がAAとAaのものが草丈が高く、aaのものが草丈が低くなっていると考えると実験結果によく適合する

雑種第1世代（F1)　Aa　x　Aa

雑種第2世代（F2)　AA　Aa　aa

草丈　高　高　低

787　277

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

メンデルの独立の法則

- エンドウマメにおいて、丸い黄色の種子をつけるものと皺があって緑色の種子をつけるものを交配すると、F1では全ての個体が丸くて黄色の種子をつけた。
- このF1を自家受粉して556個のF2種子が得られた。その内訳は丸くて黄色315、皺で黄色101、丸くて緑色108、皺で緑色32であり、ほぼ9:3:3:1の割合になった。
- 上記の結果より、メンデルは1対の遺伝子が他の1対の遺伝子とは独立に分離していると結論付けた。
- 丸か皺かを決めるA遺伝子座と色を決めるB遺伝子座を考えると下図のようになります。

AABB AaBB AABb AaBb
AAbb Aabb
aaBB aaBb
aabb

丸	黄色	315
丸	緑色	101
皺	黄色	108
皺	緑色	32

用語の定義

- 遺伝的な因子を遺伝子(gene)と呼ぶ
- 卵や精子、あるいは植物でそれらに相当するものを配偶子(gamete)という
- 2つの配偶子が受精して融合したものを接合体(zygote)という
- 同一因子を2つ持つ接合体をホモ接合体(homozygote)と呼び、異なる因子を2つ持つ接合体をヘテロ接合体(heterozygote)と呼ぶ
- 遺伝的な構成を遺伝子型(genotype)と呼び、測定可能な形質を表現型 (phenotype)と呼ぶ

前核細胞と真核細胞

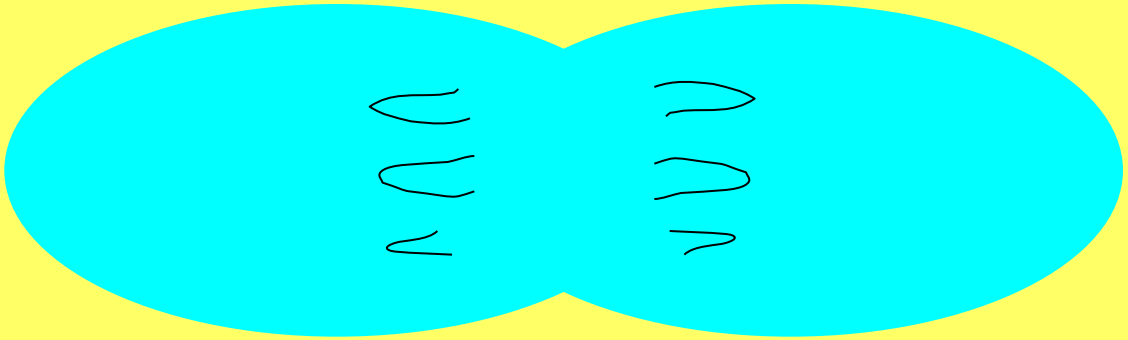
- 細菌などの核を持たない細胞を前核細胞、核を持つ細胞を真核細胞と呼び、前核細胞からなる生物を前核生物、真核細胞からなる生物を真核生物と呼ぶ。
- 酵母、カビ、高等植物、節足動物、脊椎動物などはすべて真核生物である。

真核細胞の構造

- 真核生物は細胞膜で囲まれ、その中に細胞内小器官（オルガネラ）が存在する
- 細胞内小器官には核、ミトコンドリア、小胞体、リボソーム、リソソーム、ゴルジ体、葉緑体などがある
- 遺伝子の本体であるDNAは核とミトコンドリア、葉緑体に含まれている
- ミトコンドリアではATPが合成され、リボソームではタンパク質が合成される
- 葉緑体では光合成を行う

細胞分裂と染色体

- 真核細胞では細胞が分裂する時に染色体があらわれる
- 染色体は複製され、それぞれの細胞に半分ずつ分配される
- 染色体の本数は生物種により決まっている
- 多くの生物では父親から1セット、母親から1セットの計2セット(2n)の染色体を遺伝する
- 染色体はDNAにヒストンなどのタンパク質が結合し、高度に折り畳まれたものである



減数分裂とメンデルの法則

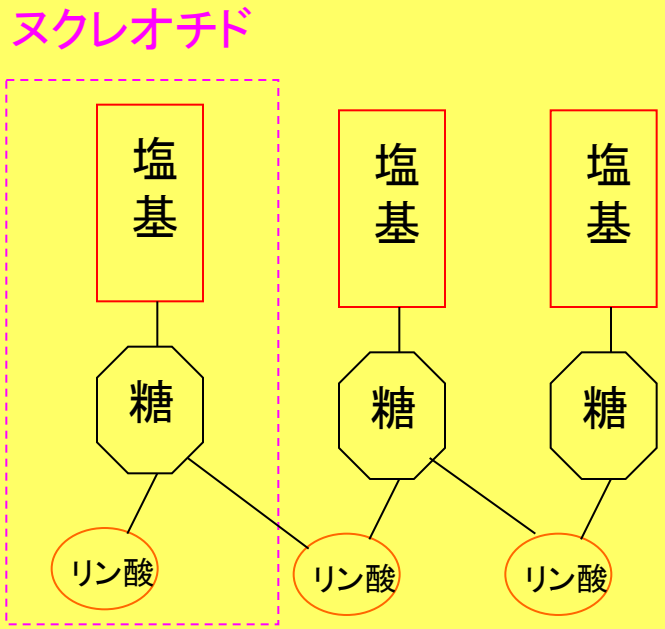
- 配偶子（精子や卵）は1セットの染色体しか持たない(1n)
- 2つの異なる配偶子が結合して(2n)、個体発生が始まる
- 体細胞から配偶子を作るには染色体を複製せずに細胞分裂する必要がある（減数分裂）

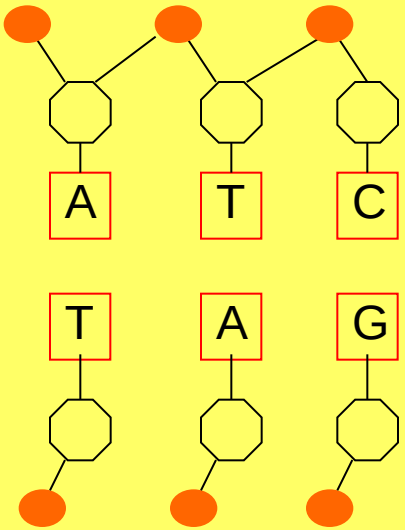
遺伝子の特性

- 遺伝子は遺伝情報を蓄えて、細胞から細胞、世代から世代へ受渡しをする
- 遺伝子は細胞分裂ごとに自己複製する
- 遺伝情報は細胞で解読されて、複雑な生体内反応を通して表現型に影響を与える
- 遺伝子複製時の誤りもそのまま伝えられる

DNAの構造

- DNA（デオキシリボ核酸）は糖（デオキシリボース）、塩基、リン酸が結合したヌクレオチドからできている
- ヌクレオチドがつながって線状の１本鎖DNAができている
- 通常のDNAは２重らせん構造の２本鎖DNAとして存在している
- 互いのDNA鎖は相補的な塩基対を構成している

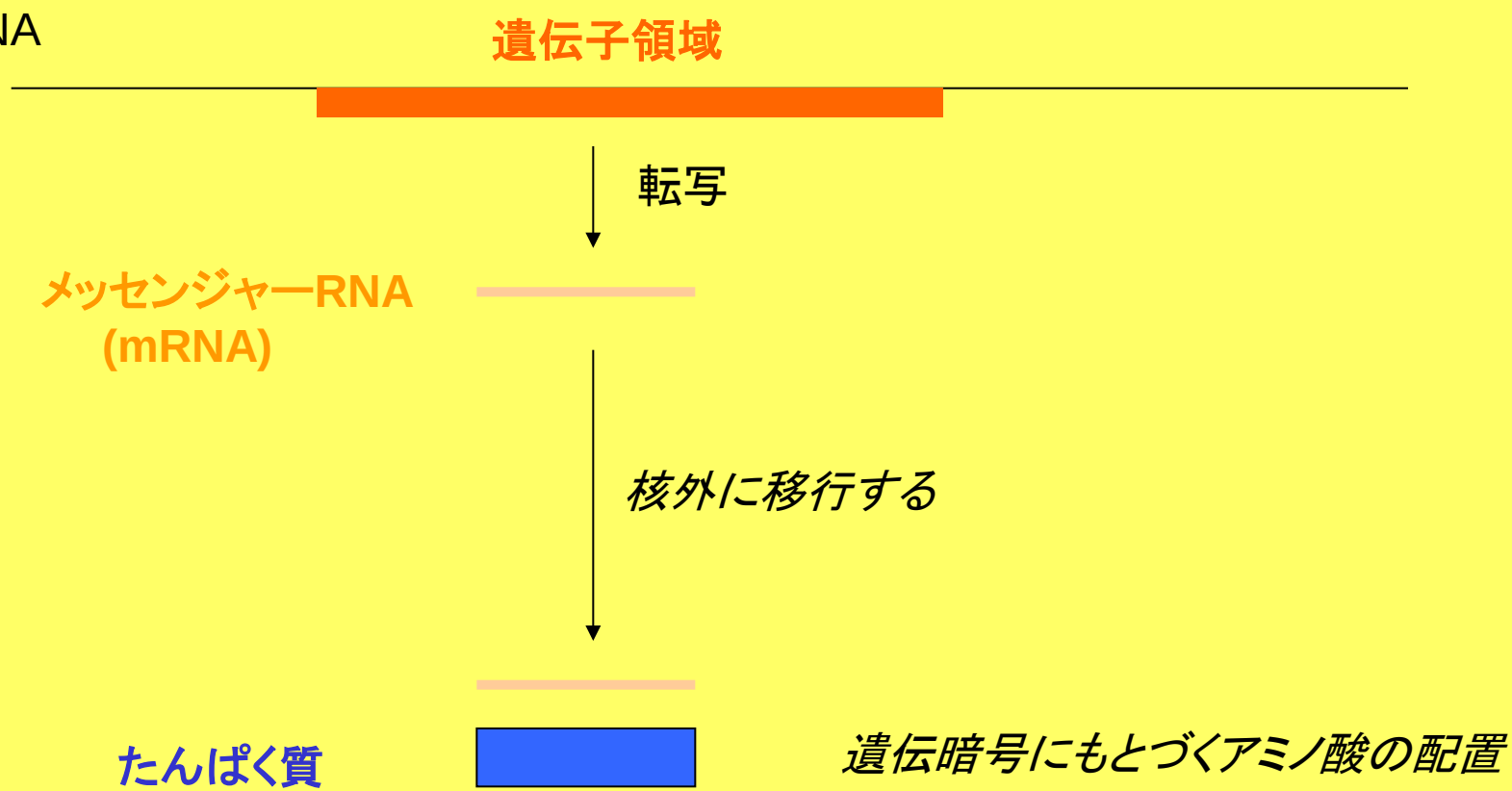




塩基は4種類

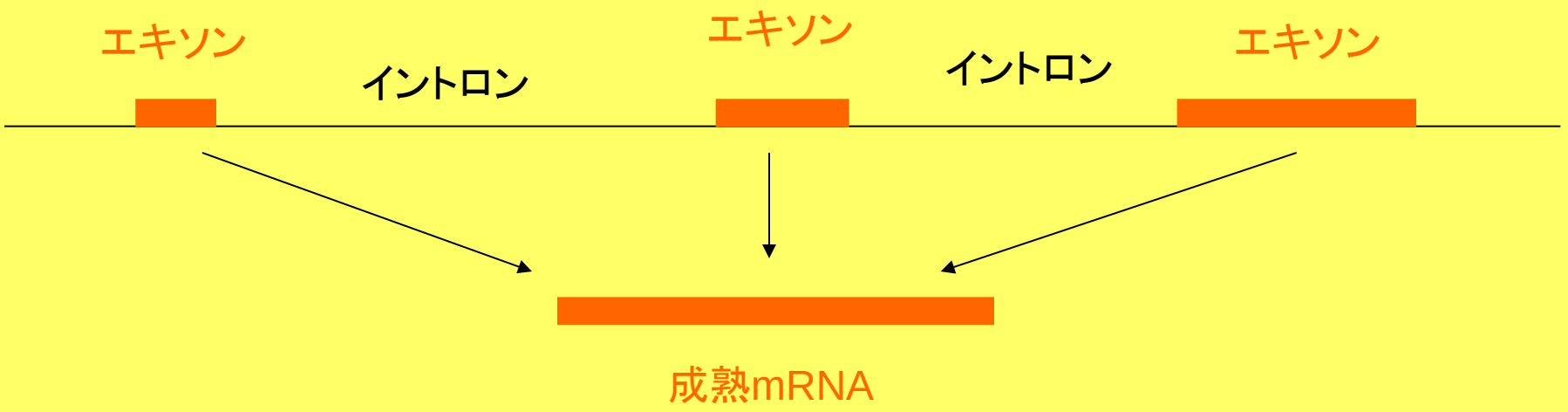
A　アデニン
T　チミン
G　グアニン
C　シトシン

セントラルドグマ


ゲノムDNA
遺伝子領域
転写
メッセンジャーRNA
(mRNA)
核外に移行する
たんぱく質
遺伝暗号にもとづくアミノ酸の配置

転写

- DNAは相補的な(C⇔G,A⇔T)塩基配列のメッセンジャーRNA(mRNA)に転写される（ただしRNAではTのかわりにウラシル(U)を使う）
- 真核生物では最初に長いRNAに転写され、次にイントロン部分が切り離される（スプライシング）



翻訳

- mRNAは核外に移行し、リボソームでタンパク質に翻訳される
- 特異的なアミノ酸と結合した転移RNA(tRNA)がmRNAの暗号にそって並んでいく
- アミノ酸がmRNAの暗号の順序で結合 する
- 他の酵素によって一部を切断されたり、他のタンパク質と結合したり、金属原子を取り込んだり、自らを折り畳んだりして成熟したタンパク質になる

コドンとアミノ酸

- mRNAは3塩基単位でアミノ酸に翻訳される
- この3塩基をコドンと呼ぶ
- コドンごとにtRNAが存在する
- コドンには翻訳の開始や終了を規定しているものもある
- 染色体とミトコンドリアでは遺伝暗号が異なる（コドンに対応するアミノ酸が異なる）

（核の遺伝暗号の例）

GAU　－＞　アスパラギン酸　　UCU　－＞　セリン

AUG　－＞　メチオニン（あるいは開始コドン）

制限酵素とリガーゼ

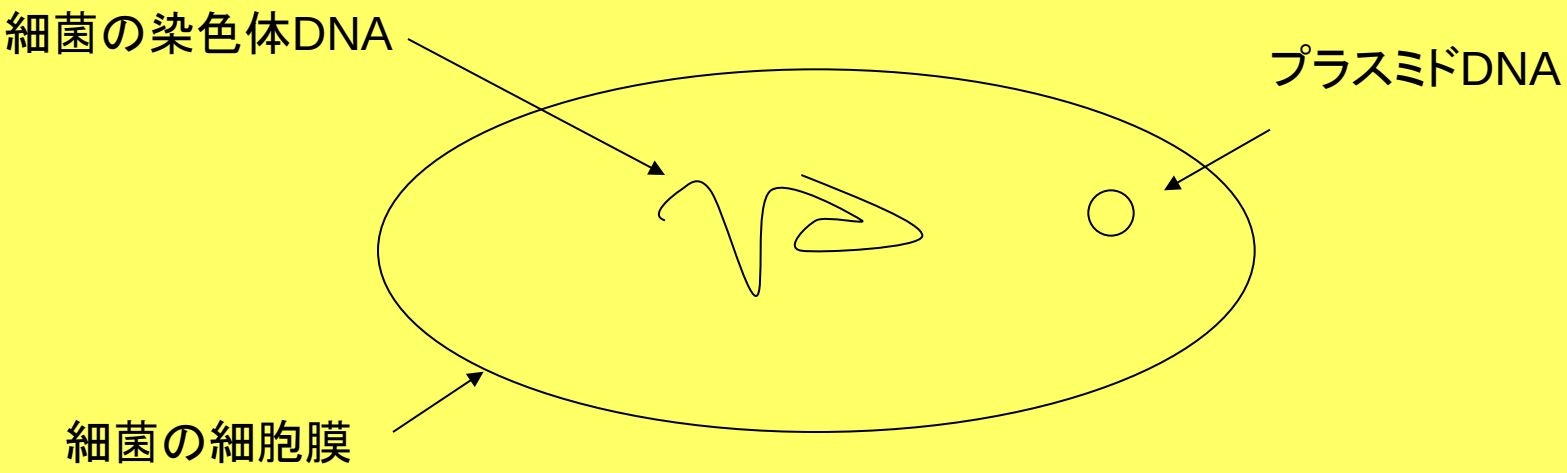
- ２本鎖DNAをある特定の塩基配列で切断するのが制限酵素
- 切断されたDNAどうしを貼りつける酵素がDNAリガーゼであり、貼りつける反応をライゲーションと呼ぶ

制限酵素の例

EcoRIは下のような塩基配列を認識して、赤線で示したように切断する

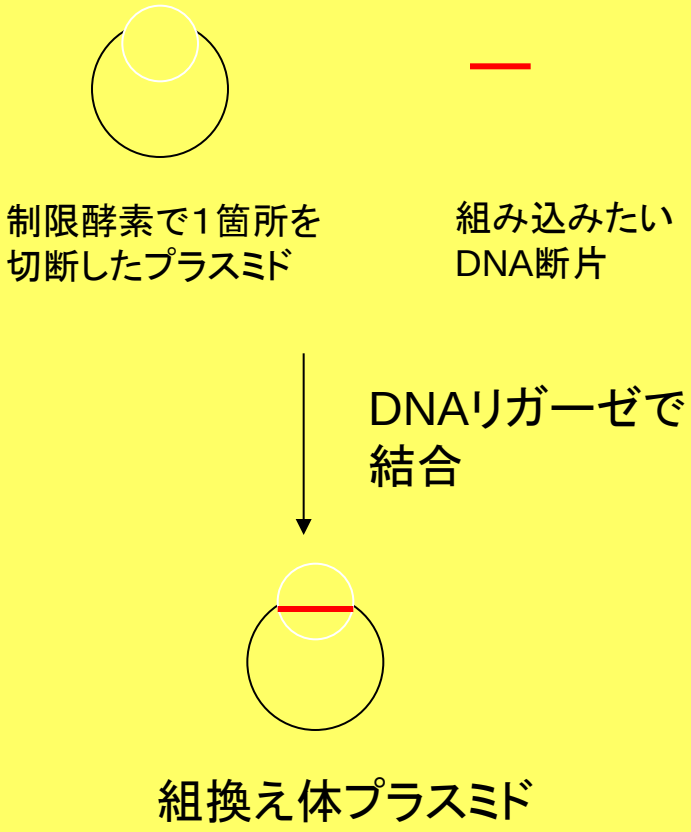
プラスミド

- プラスミドとは細菌の中で染色体とは別に存在する環状DNA
- 細胞分裂や染色体DNAの合成とは無関係に増殖できる。



DNAクローニング

- 特定のDNA断片を増やす方法としてプラスミドDNAを利用する方法がある
- プラスミドDNAの1箇所を切断し、そこにDNA断片を組み込む
- できあがった人工組換えDNAもプラスミドとして作用する
- 大腸菌の中でプラスミドを増やすことによって、DNA断片を増幅できる

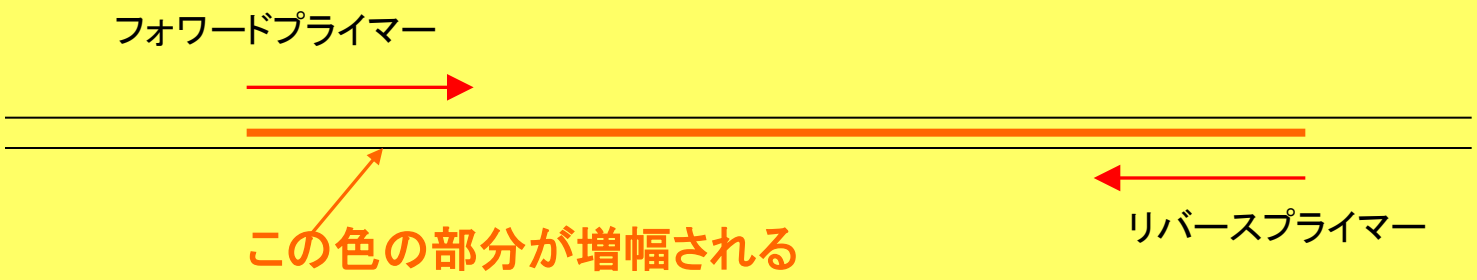


組換えDNA実験指針

- 組換えDNA実験は新しいゲノムを持つ生命体を誕生させる
- 組換えDNA実験には規制があり、その危険度に応じて届け出、承認が必要
- 危険度の低いベクター（プラスミドなど）に植物などの遺伝子を組み込む場合はP1実験室が必要
- 危険度の低いベクター（プラスミドなど）に脊椎動物などの遺伝子を組み込む場合はP２実験室が必要

PCR法

- DNAクローニング法よりも簡便に特定のDNA断片を増幅する方法としてPCR法がある
- 増やしたいDNA断片の両側にPCRプライマーを設定し、その2つのプライマーではさまれた部分のDNA断片をサーマルサイクラーという機械を用いて増幅する

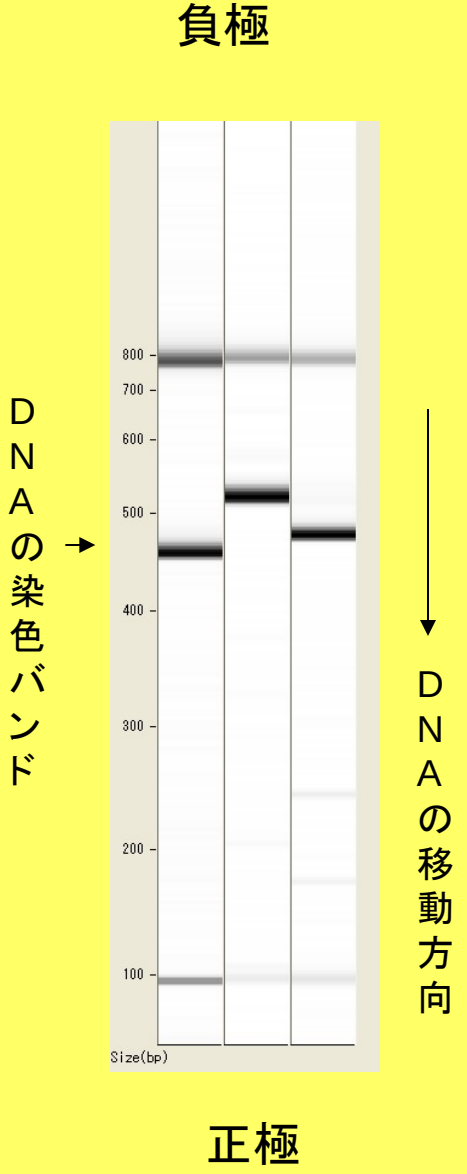


PCRの利点と注意点

- PCR法はDNAクローニング法よりも短時間で効率的に特定のDNA断片を増幅することができる
- DNA断片に対する特異性も高い
- プライマーを作成するための情報が必要である
- プライマーの設計が悪いと、非特異的増幅が起きたり、プライマーダマーが形成されることがある
- PCRによる増幅は指数関数的であり、PCR後の産物の濃度は一般には初期鋳型量に比例しない

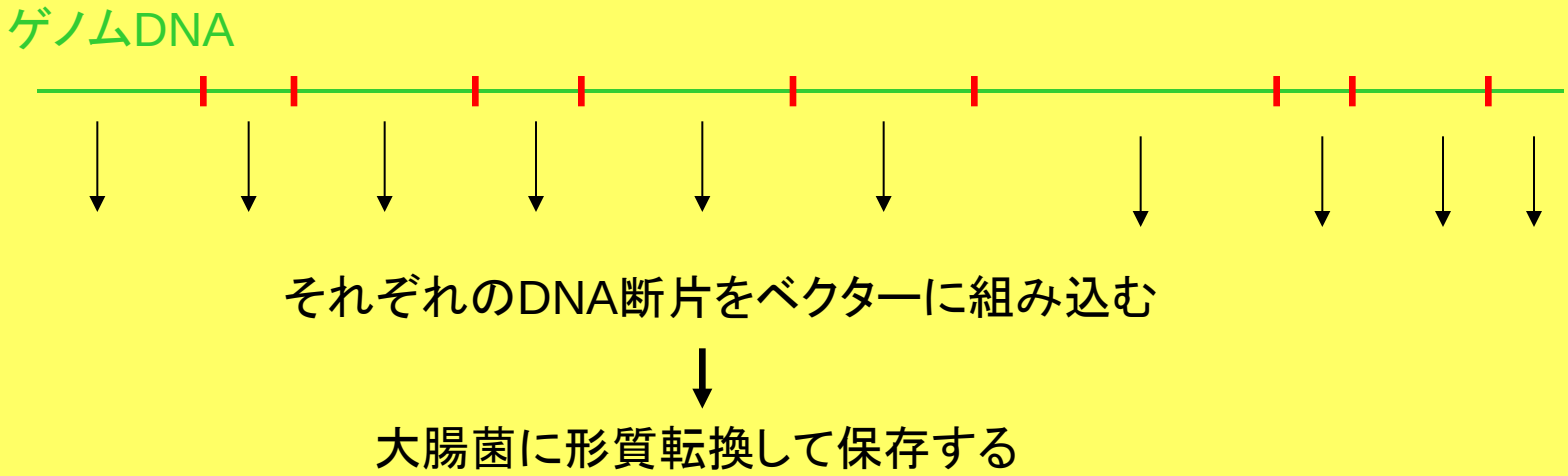
ゲル電気泳動

- 物質の電気的な性質を利用してDNA断片やタンパク質を分離するための手法
- DNAはマイナスの電荷を帯びているのでゲルにアプライして、ゲルに直流電流を流すとプラス方向へ移動する
- 2本鎖DNAの場合、DNA断片の長さによって電荷の量が異なるので、ゲル電気泳動によって短いDNA断片は速く移動し、長いDNA断片は移動が遅い
- 電気泳動後、DNAを染色すれば移動度の違いからDNA断片の長さを区別することができる



ゲノムライブラリ

- ある生物のゲノムDNAを適当な制限酵素などで切断する
- それぞれのゲノムDNA断片をプラスミドやラムダファージなどに組み込む
- このベクター群を大腸菌に挿入（形質転換；トランスフォーメーション）する
- この大腸菌を増やせばゲノムDNA断片が容易に得られる

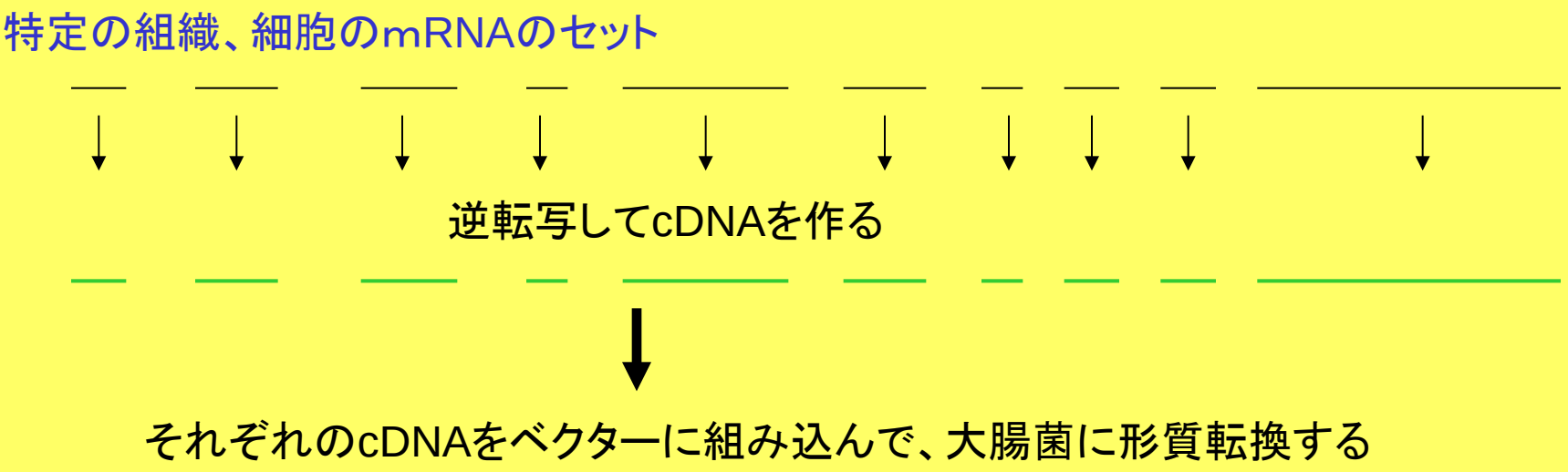


逆転写とcDNA

- mRNAの塩基配列の相補的な配列を持ったDNAを作ることを逆転写と呼ぶ
- mRNAから逆転写したDNAをcDNAと呼ぶ
- レトロウイルスなどが例外的に逆転写酵素を持っている

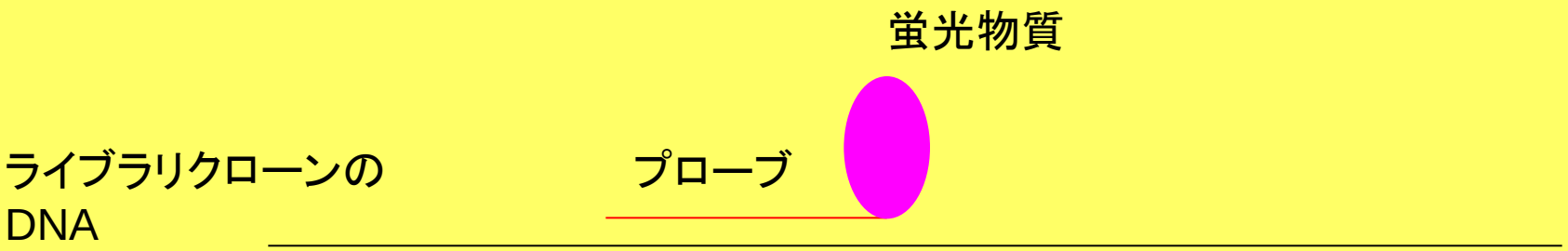
cDNAライブラリ

- mRNAに逆転写酵素を加えて反応させることによって1本鎖のcDNAを作ることができる。
- これにDNAポリメラーゼを作用させれば2本鎖のcDNAが作成できる
- このcDNAをプラスミドやラムダファージに組み込んでライブラリとしたものがcDNAライブラリである。



ハイブリダイゼーション

- 相補的な塩基配列を持つDNAやRNAを結合させることをハイブリダーゼーションと呼ぶ
- この相補的なDNA（プローブと呼ぶ）にRIや蛍光でラベルしておいてやると、特定の塩基配列を持つDNAやRNAを検出することができる
- ライブラリの大腸菌コロニーを対象とする場合はコロニーハイブリダイゼーションと呼び、ライブラリの中から必要なDNA断片が挿入されたクローンを検索することができる



シーケンシング

- DNAの塩基配列の並びを読む作業をシーケンシングと呼ぶ
- シーケンサーという機械で塩基配列を読むのが普通であるが、1度に読める長さは500bpから1000bp程度
- 従って、cDNAクローンやゲノムライブラリのクローンの塩基配列を 1度で読むことはできないことが多い